

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1929-1930.

N° 33.

DOSAGE BIOLOGIQUE ET ÉTALONNAGE

DE

# QUELQUES GLUCOSIDES CARDIOTONIQUES

OUABAÏNE, DIGITALINE, SCILLARÈNES, CYMARINE

## THÈSE

Pour l'obtention du Diplôme de Docteur de l'Université de Paris  
(Pharmacie).

Présentée et soutenue le

1930

PAR

**RAYMOND CAHEN**

LAURÉAT DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE

LICENCIÉ ÈS SCIENCES

INTERNE LAURÉAT DES HOPITAUX DE PARIS

JURY

{ MM. GORIS, Président;  
COUTIÈRE, Professeur;  
MASCRÉ, Agrégé.

PARIS

IMPRIMERIE A. MARETHEUX ET L. PACTAT

1, RUE CASSETTE, 1

1930



UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1929-1930.

N° 33.

DOSAGE BIOLOGIQUE ET ÉTALONNAGE

DE

# QUELQUES GLUCOSIDES CARDIOTONIQUES

OUABAÏNE, DIGITALINE, SCILLARÈNES, CYMARINE

## THÈSE

Pour l'obtention du Diplôme de Docteur de l'Université de Paris  
(Pharmacie).

*Présentée et soutenue le*

1930

PAR

**RAYMOND CAHEN**

LAURÉAT DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE

LICENCIÉ ES SCIENCES

INTERNE LAURÉAT DES HOPITAUX DE PARIS

JURY

{ MM. GORIS, Président;  
COUTIÈRE, Professeur  
MASCRÉ, Agrégé.

PARIS

IMPRIMERIE A. MARETHEUX ET L. PACTAT

1, RUE CASSETTE, 1

1930

# PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE

## ADMINISTRATION



MM. RADAIS, *Doyen*, O. ✱, ☉ I.  
 PERROT, *Assesseur*, O. ✱, ☉ I.  
 G. DURSENT, *Secrétaire*, ✱, ☉ I.

## PROFESSEURS :

|                                |                                     |
|--------------------------------|-------------------------------------|
| MM. RADAIS, O. ✱, ☉ I. . . . . | Cryptogamie et Microbiologie.       |
| BÉHAL, C. ✱, ☉ I. . . . .      | Chimie organique.                   |
| Membre de l'Institut.          |                                     |
| PERROT, O. ✱, ☉ I. . . . .     | Histoire naturelle des Médicaments. |
| COUTIÈRE, O. ✱, ☉ I. . . . .   | Zoologie.                           |
| GRIMBERT, ✱, ☉ I. . . . .      | Chimie biologique.                  |
| LEBEAU, O. ✱, ☉ I. . . . .     | Pharmacie chimique.                 |
| N... . . . .                   | Hydrologie et Hygiène.              |
| GUERBET, ✱, ☉ I. . . . .       | Toxicologie.                        |
| BOUGAULT, ✱, ☉ I. . . . .      | Chimie analytique.                  |
| GORIS, ✱, ☉ I. . . . .         | Pharmacie galénique.                |
| GUÉRIN, ✱, ☉ I. . . . .        | Botanique générale.                 |
| TASSILLY, ✱, ☉ I. . . . .      | Physique.                           |
| DAMIENS, ✱, ☉ I. . . . .       | Chimie minérale.                    |

*Professeur honoraire* : M. A. VILLIERS, ✱, ☉ I.

## CHARGÉS DE COURS :

|                                |                                             |
|--------------------------------|---------------------------------------------|
| MM. SOMMELET, ✱, ☉ I. . . . .  | Minéralogie.                                |
| Marc HONNORAT, ✱, ☉ I. . . . . | Législation et Déontologie pharmaceutiques. |
| LUTZ, ✱, ☉ I. . . . .          | Cryptogamie.                                |
| LAUNOY, ✱, ☉ A. . . . .        | Pharmacodynamie.                            |

## AGRÉGÉS EN EXERCICE :

|                       |                 |
|-----------------------|-----------------|
| MM. SOMMELET, ✱, ☉ I. | MM. PICON, ☉ I. |
| LUTZ, ✱, ☉ I.         | FABRE, ☉ I.     |
| LAUNOY, O. ✱, ☉ A.    | MASCRÉ, ☉ I.    |
| HERISSEY, O. ✱, ☉ I.  | FLEURY, ☉ I.    |
| DELABY, ✱, ☉ A.       | BACH, ☉ I.      |

## CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES :

|                                                        |                                                                      |
|--------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| MM. N... . . . .                                       | Chimie générale.                                                     |
| FABRE, ☉ I. et FLEURY, ☉ I., <i>agregés</i> ,          |                                                                      |
|                                                        | chargés des travaux de                                               |
| SOUÈGES, ☉ I. . . . .                                  | Chimie analytique.                                                   |
| LEROUX, ☉ I. . . . .                                   | Micrographie.                                                        |
| DEVAL, ☉ I. . . . .                                    | Physique.                                                            |
| HERISSEY, O. ✱, ☉ I.; DELABY, ✱, ☉ A. et PICON, ☉ I. : | Microbiologie.                                                       |
|                                                        | <i>agregés, chargés des travaux généraux de 4<sup>e</sup> année.</i> |

*Bibliothécaire en chef* : M. BEAULIEUX, ☉ I.

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

A MA MÈRE

AUX MIENS

*En témoignage de gratitude pour tout ce  
que je leur dois.*

A MON MAITRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR TIFFENEAU

MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE  
PROFESSEUR A LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS  
PHARMACIEN EN CHEF DE L'HOTEL-DIEU

*Témoignage de profonde et respectueuse  
gratitude pour les encouragements et le  
soutien qu'il m'a prodigués sans compter.*

# A MONSIEUR LE PROFESSEUR GORIS

PROFESSEUR A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS  
DIRECTEUR DE LA PHARMACIE CENTRALE DES HOPITAUX

*Hommage de respectueuse reconnaissance.*

# A MADEMOISELLE JEANNE LÉVY

DOCTEUR EN MÉDECINE

DOCTEUR ÈS SCIENCES PHYSIQUES

CHEF DU LABORATOIRE DE PHARMACOLOGIE A LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

DIRECTEUR TECHNIQUE DE L'INSTITUT DE BIOLOGIE CLINIQUE (HOPITAL COCHIN)

*qui m'a guidé avec la science la plus sûre  
et la plus inlassable patience, en hommage  
de ma déférente affection.*

# DOSAGE BIOLOGIQUE ET ÉTALONNAGE DE QUELQUES GLUCOSIDES CARDIOTONIQUES

OUABAÏNE, DIGITALINE, SCILLARÈNES, CYMARINE

---

Dans ces dernières années, de nombreux pharmacologistes <sup>(1)</sup> ont signalé de grandes divergences de toxicité entre les différents échantillons d'ouabaïne, ces toxicités étant déterminées par la même méthode, sur une même espèce animale. A la suite de ces résultats qui furent communiqués et discutés à Francfort en 1928, les Commissions internationales décidèrent qu'à l'occasion de la préparation d'un étalon d'ouabaïne il y aurait lieu de se préoccuper de la teneur en eau de cristallisation des échantillons sur lesquels seraient effectués les dosages biologiques. C'est à M. le professeur TIFFENEAU que fut confié le soin de préparer l'étalon ouabaïne. Afin de pouvoir choisir comme étalon une ouabaïne extrêmement pure et de fixer les conditions dans lesquelles devraient avoir lieu les essais biologiques comparatifs, M. le professeur TIFFENEAU nous chargea de déterminer les toxicités relatives de trois ouabaïnes d'origines différentes : ouabaïne ARNAUD, G. strophanthine, ouabaïne U. S. P. X., tandis qu'il demandait à M. HASENFRATZ de fixer quelques constantes physiques de ces substances, pouvoir rotatoire et teneur en eau.

Parmi les différentes techniques qui pouvaient être utilisées pour cette détermination, nous avons choisi la méthode de perfusion lente chez le chien <sup>(2)</sup>, modification de la méthode de HATCHER-MAGNUS éprouvée depuis trois ans dans le laboratoire où nous travaillons et qui avait donné pour le dosage de la digitale des résultats très satisfaisants.

Cette méthode consiste à déterminer la dose minimum mortelle qui

1. BURN et TREVAN. *The pharmac. Journal*, 1926, **118**, p. 439. — FRANK WOKES. *Quart. J. Pharm.*, 1928, **1**, p. 513. — EDMUNDS, LOWELL et BRADEN. *J. Am. Pharm. Assoc.*, 1929, **36**, p. 338.

2. JEANNE LEVY et J. PICHOT. *Bull. Scienc. Pharm.*, 1929, **36**, p. 593.

amène par perfusion lente la mort cardiaque d'un chien en un temps voisin de trente minutes. Nous avons déterminé simultanément pour chacun des trois échantillons envisagés, d'une part, la teneur en eau de cristallisation et, d'autre part, la dose minimum moyenne mortelle, qui est la moyenne des doses minima mortelles obtenues avec un certain nombre d'animaux; de plus, nous avons calculé d'après la règle de TREVAN l'erreur maximum commise pour chacune des séries d'essais.

Il nous a été permis, d'après ces résultats, de montrer que si on rapporte le titre des solutions des divers échantillons d'ouabaïne à l'ouabaïne anhydre ou à l'ouabaïne cristallisée à 9 H<sup>2</sup>O, les toxicités sont identiques. C'est précisément cette identité d'action physiologique qui nous a permis de conclure à l'identité absolue des trois ouabaïnes envisagées. Dans ces conditions, comme il était indifférent de choisir pour l'étalon international l'une ou l'autre des ouabaïnes examinées pourvu que sa teneur en eau fût exactement précisée, M. le professeur TIFFENEAU a adopté, pour constituer l'étalon international, un échantillon d'ouabaïne ARNAUD cristallisée avec 19,94 % d'eau. Cet étalon a été adressé à M. le professeur DALE; il sera conservé au National Institute for Medical Research, par fractions de 100 milligr. contenues dans des ampoules de verre hermétiquement closes.

Ainsi, la concordance des résultats obtenus dans nos essais biologiques nous a permis d'affirmer l'identité de trois ouabaïnes jusqu'ici considérées comme différentes. D'ailleurs, ces conclusions furent confirmées par des déterminations d'ordre physique effectuées par SCHWARTZE, HANN et KEENAN (<sup>1</sup>), pouvoir rotatoire, indice de réfraction, composition centésimale, détermination de la teneur en eau.

Dans ce cas particulier, deux méthodes procédant de disciplines bien différentes nous ont permis, par leur association, de formuler des conclusions justifiées sur l'identité de trois ouabaïnes d'origines diverses.

A première vue, on pouvait toutefois se demander si une méthode biologique, nécessaire pour titrer des drogues complexes comme la digitale et l'ergot ou des substances de nature chimique mal déterminée comme l'aconitine ou la plupart des hormones, était indispensable pour le dosage de produits chimiquement définis. Cependant, comme certaines impuretés, préexistant, ou apparaissant au cours de l'altération des substances médicamenteuses, sont impossibles à déceler par les méthodes chimiques ou physico-chimiques, il est nécessaire, dans certains cas, d'avoir recours aux méthodes biologiques, soit seules, soit associées aux méthodes chimiques ou physico-chimiques. C'est en tenant compte de ces considérations que les Commissions internationales ont préconisé le dosage biologique de l'adrénaline, de l'ouabaïne et de cer-

1. SCHWARTZE, HANN et KEENAN. *The Journal of Pharm. and exp. Therap.*, 1929, **36**, p. 481.

tains dérivés arsenicaux et que la Commission du Codex en 1928 a adopté simultanément les dosages chimique et biologique des arsenobenzènes.

Étant donnés les résultats satisfaisants obtenus dans le dosage biologique des diverses ouabaïnes, nous avons pensé appliquer la même méthode à la détermination de la dose minimum mortelle de la digitaline NATIVELLE et de la digitoxine MERCK. Il nous a été possible d'identifier ces substances, jusqu'alors tantôt différenciées, tantôt confondues par les divers auteurs. Nous avons usé de la même méthode pour déterminer la toxicité de la bigitaligénine, des scillarènes A, B et C, ainsi que de la cymarine, et nous avons établi le rapport existant entre leurs toxicités respectives et celles de l'ouabaïne. Enfin nous avons pensé que, puisqu'il était possible de déterminer la toxicité des teintures de strophanthus en prenant comme étalon l'ouabaïne, on pouvait également utiliser le scillarène A comme étalon des préparations galéniques à base de scille : c'est en nous basant sur ces considérations que nous avons dosé quelques teintures commerciales de strophanthus et quelques teintures de scille.

Nous avons décrit, dans un premier chapitre, la technique utilisée; dans un deuxième chapitre nous avons exposé les résultats obtenus dans la détermination des toxicités de trois ouabaïnes d'origines diverses, les conditions dans lesquelles s'effectue le dosage biologique de l'étalon ouabaïne ainsi que la technique du dosage biologique des teintures de strophanthus. Enfin, dans les chapitres suivants, nous avons indiqué les chiffres obtenus dans les déterminations de toxicité de la digitaline, de la digitoxine, de la bigitaligénine, des scillarènes A, B et C, des teintures de scille et de la cymarine.

---

## CHAPITRE PREMIER

### TECHNIQUE UTILISÉE POUR LA DÉTERMINATION DES TOXICITÉS DE QUELQUES GLUCOSIDES CARDIOTONIQUES

---

Pour les essais biologiques décrits dans ce travail nous avons utilisé la méthode de HATCHER-MAGNUS <sup>(1)</sup> appliquée au chien, méthode déjà utilisée sur cet animal par ROWE <sup>(2)</sup>. Nous avons strictement suivi la technique décrite par JEANNE LÉVY et JEAN PICHOT <sup>(3)</sup>, qui consiste à injecter par perfusion lente dans la fémorale du chien une solution du glucoside à examiner, puis à déterminer la dose minimum mortelle qui est la moyenne des doses minima mortelles obtenues sur un certain nombre d'animaux.

Nous ne décrirons pas ici tous les détails de cette technique bien connue, mais nous signalerons néanmoins les quelques précautions indispensables à prendre pour réaliser un dosage aussi rigoureux que possible.

Les chiens utilisés sont choisis de poids variant entre 5 et 10 K<sup>os</sup> et anesthésiés au moyen du chloralose (0 gr. 12 par kilogramme). Durant toute la durée de la perfusion, on pratique la respiration artificielle dans des conditions que l'on s'efforce de rendre constantes pour les différents essais. Enfin, le rythme suivant lequel est effectuée l'injection est choisi de telle sorte que la mort ait lieu dans un temps très voisin de trente minutes. Cette dernière condition implique, bien entendu, quelques essais préliminaires pour fixer la toxicité approximative du produit examiné : l'arrêt du cœur peut être constaté par divers procédés : palpation de l'organe, ouverture de la cage thoracique, ou inscription de la pression artérielle.

1. HATCHER, *Journ. Am. Med. Assoc.*, 1907, **78**, p. 1171.

2. W. ROWE, *Journ. of the Americ. Pharmac. Assoc.*, 1919, **8**, p. 900.

3. JEANNE LÉVY et JEAN PICHOT, *Bull. Soc. Pharm.*, 1929, **36**, p. 593.

Pour calculer la dose minimum mortelle nous avons suivi les règles exprimées par BURN (1), et à l'encontre de LIND VAN WIJNGAARDEN (2), HASKELL (3) et EGGLESTON (4), nous n'avons pas écarté des moyennes les chiffres aberrants.

La dose minimum mortelle (M) est calculée comme suit :

Soient  $m$  : le poids de glucoside injecté pour amener la mort.

$p$  : le poids du chien.

$n$  : le nombre d'essais.

$$M = \left( \frac{m^1}{p^1} + \frac{m^2}{p^2} + \frac{m^n}{p^n} \right) \frac{1}{n}.$$

Cette valeur expérimentale de la dose minimum mortelle se rapproche, d'après BURN, d'autant plus de la valeur réelle de la dose minimum mortelle que le nombre des essais est plus grand. Le calcul statistique permet de calculer l'erreur maximum commise à chaque nouvelle expérience et par conséquent d'apprécier la précision de chaque dosage biologique. Des règles générales ont été fournies par divers auteurs pour calculer, à partir des données expérimentales, l'erreur maximum commise.

1° D'après TREVAN, si  $n$  est le nombre des déterminations,

$d$ , l'écart moyen, c'est-à-dire la moyenne des écarts entre chacune des déterminations des doses mortelles et la dose minimum moyenne,

$M$ , la dose minimum mortelle,

$$E, \text{ l'écart individuel moyen} = \sqrt{\frac{(d^2)}{n(n-1)}}$$

on peut admettre que l'erreur maximum pour 100 =  $\frac{300 E}{M}$ .

2° D'après LIND VAN WIJNGAARDEN on doit, dans un dosage biologique de cette espèce, continuer les déterminations jusqu'à ce que l'écart moyen pour 100 soit inférieur à  $6,67 \sqrt{n-1}$ .

Nous avons dans tous nos dosages calculé l'erreur maximum pour 100 d'après la règle de TREVAN et nous avons aussi appliqué la règle de LIND VAN WIJNGAARDEN.

1. BURN. *Methods of Biolog. assay*. Oxford *Medic. public*, 1928.

2. LIND VAN WIJNGAARDEN. *Archiv. fur exp. Path. und Pharm.*, 1926, **113**, p. 52.

3. HASKELL. *Journ. of Pharm. und Ther.*, 1928, **33**, p. 207.

4. EGGLESTON. *Amer. Journ. Pharm.*, 1913, **85**, p. 99.

## CHAPITRE II

### OUABAIN ET TEINTURE DE STROPHANTHUS

---

#### I. TOXICITÉ DE L'OUABAÏNE ET PRÉPARATION DE L'ÉTALON INTERNATIONAL.

La Conférence de Francfort-sur-le-Mein de 1928 décida de préparer et conserver un échantillon type d'ouabaïne dont la teneur en eau de cristallisation serait exactement déterminée : elle confia à M. le professeur TIFFENEAU le soin de préparer l'étalon d'ouabaïne. Comme des divergences importantes avaient été signalées entre les toxicités des diverses ouabaïnes, M. le professeur TIFFENEAU nous chargea d'effectuer simultanément, par la même méthode, des essais biologiques sur trois substances d'origines diverses : ouabaïne Arnaud, G. strophantine et ouabaïne étalon des États-Unis. Les recherches que nous décrirons ci-dessous nous ont montré que ces divers produits ont la même toxicité et que leur identité n'est pas douteuse ; seules les questions de liquide de cristallisation (eau ou alcool) peuvent intervenir pour modifier les toxicités ; mais en opérant sur des produits rendus anhydres ou dont on connaît la teneur en eau de cristallisation on obtient des résultats très suffisamment concordants. En même temps que nous effectuions les essais de toxicité ci-dessus indiqués, E. W. SCHWARTZE, R. M. HANN et C. L. KEENAN <sup>(1)</sup> déterminaient la teneur en eau, le pouvoir rotatoire, l'indice de réfraction et la composition centésimale d'échantillons d'ouabaïne ARNAUD, de G. strophantine fournie par le professeur THOMS, d'ouabaïne étalon U. S. P. X. et d'ouabaïne commerciale américaine. En ce qui concerne la teneur en eau, leurs essais, qui ont consisté à faire préalablement cristalliser les échantillons dans divers solvants : eau, eau chaude, alcool-eau, alcool-éther, avant d'effectuer la dessiccation, ont montré que, suivant le solvant utilisé, la perte de poids peut varier de 6,37 à 19,8 ; ces résultats sont parfaitement concordants

1. *Loc. cit.*

avec ceux communiqués par M. HASENFRATZ, qui a bien voulu, à la demande de M. le professeur TIFFENEAU, effectuer quelques déterminations de teneur en eau des diverses ouabaïnes.

De ces différents essais il résulte que, lorsque l'ouabaïne est cristallisée dans l'alcool à 93°, elle abandonne difficilement les dernières traces de solvant (seulement 1,22 % en neuf jours dans un dessiccateur à P<sup>2</sup>O<sup>5</sup>). Il est nécessaire, pour la rendre anhydre, de la maintenir, soit à 130° (SCHWARTZE), soit à 113° en présence de CaCl<sup>2</sup> (HASENFRATZ). Au contraire, lorsque l'ouabaïne est cristallisée dans l'eau, elle perd beaucoup plus facilement son eau de cristallisation et il suffit, pour la rendre anhydre, de la maintenir, soit à 100°, soit dans le vide, pendant vingt-quatre heures en présence d'anhydride phosphorique (SCHWARTZE), soit pendant quarante-huit heures en présence d'acide sulfurique (HASENFRATZ).

Nous n'avons effectué les déterminations de toxicité des ouabaïnes diverses que sur des échantillons, dont la teneur en eau de cristallisation était préalablement déterminée. Nous avons calculé la dose minimum mortelle de chacun des échantillons examinés non seulement en produit anhydre, mais en produit cristallisé à 9H<sup>2</sup>O (C<sup>30</sup>H<sup>46</sup>O<sup>12</sup>, 9H<sup>2</sup>O), et pour ce qui concerne l'échantillon d'ouabaïne ARNAUD, qui constituera le futur étalon international, nous avons calculé la dose minimum mortelle en ouabaïne à 19,94 % d'eau, teneur moyenne en eau de l'échantillon étalon. Nous fournissons pour chacun des échantillons étudiés les teneurs moyennes en eau de cristallisation, ainsi que les pouvoirs rotatoires spécifiques (<sup>1</sup>).

A. TOXICITÉ DE L'OUABAÏNE ARNAUD. — La substance que nous a fournie la firme NATIVELLE et qui constituera le futur étalon international a une teneur moyenne en eau de 19,94 %. Ce chiffre est la moyenne de trois déterminations ayant fourni comme pourcentage 20; 20,01; 19,8. D'autre part, la teneur en eau calculée d'après la formule C<sup>30</sup>H<sup>46</sup>O<sup>12</sup>, 9H<sup>2</sup>O est 21,33 %. La rotation spécifique du produit anhydre  $\alpha_D$  est : — 30°6 avec la lampe à arc de mercure  $\alpha_D$  jaune = — 33°1, et  $\alpha_D$  vert = — 37°6.

Toutes les mesures de toxicité ont été effectuées avec une solution contenant 0 milligr. 025 d'ouabaïne par centimètre cube. Cette solution est préparée en diluant au centième, dans l'eau distillée, 1 cm<sup>3</sup> d'une solution alcoolique d'ouabaïne, obtenue en dissolvant 50 milligr. d'ouabaïne dans 20 cm<sup>3</sup> d'alcool absolu (<sup>2</sup>).

Nous avons effectué deux séries d'essais résumés dans les tableaux I et II. Dans une première série, les essais ont été effectués sur vingt chiens

1. Ces données ont été fournies par M. HASENFRATZ,

2. Nous nous sommes assuré par quelques essais préliminaires que les doses d'alcool injectées à l'animal ne modifient pas ses réactions.

avec un échantillon d'ouabaïne contenant 19,8 % d'eau. Nous avons perfusé dans la fémorale du chien la solution indiquée ci-dessus, à raison de 0 cm<sup>3</sup> 255 par kilogramme et par minute, soit 0 milligr. 0063 par minute et par kilogramme. La durée de la perfusion a varié entre vingt-neuf et trente-cinq minutes (tableau I). Nous avons, d'après ces essais, calculé la dose minimum mortelle moyenne, qui est de 0 milligr. 167 par kilogramme d'animal pour l'ouabaïne contenant 19,8 % d'eau.

TABLEAU I.

| POIDS DU CHIEN<br>en kilogrammes | QUANTITÉ<br>d'ouabaïne<br>perfusée<br>par<br>kilogramme<br>en<br>milligrammes | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>sol. d'ouabaïne<br>perfusés<br>par<br>kilogramme<br>d'animal | DURÉE<br>de la<br>perfusion<br>en<br>minutes | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>sol. d'ouabaïne<br>(0 milligr. 025<br>par cent. cube)<br>perfusés | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>sol. d'ouabaïne<br>(0 milligr. 025<br>par cent. cube)<br>perfusés<br>par minute |
|----------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 5                                | 1,20                                                                          | 28                                                                                                | 23                                           | 5,60                                                                                                   | 0,14                                                                                                                 |
| 8                                | 2,02                                                                          | 57                                                                                                | 28                                           | 7,13                                                                                                   | 0,178                                                                                                                |
| 8                                | 2,02                                                                          | 57                                                                                                | 27                                           | 7,13                                                                                                   | 0,178                                                                                                                |
| 8,4                              | 2,13                                                                          | 66                                                                                                | 32                                           | 7,80                                                                                                   | 0,195                                                                                                                |
| 7,4                              | 1,87                                                                          | 39                                                                                                | 21                                           | 5,26                                                                                                   | 0,131                                                                                                                |
| 8,3                              | 2,10                                                                          | 40,9                                                                                              | 19                                           | 4,80                                                                                                   | 0,12                                                                                                                 |
| 7,9                              | 2                                                                             | 48,5                                                                                              | 24                                           | 6,08                                                                                                   | 0,162                                                                                                                |
| 8,8                              | 2,2                                                                           | 52,5                                                                                              | 24                                           | 5,90                                                                                                   | 0,147                                                                                                                |
| 7                                | 1,77                                                                          | 49                                                                                                | 29                                           | 7,00                                                                                                   | 0,175                                                                                                                |
| 9                                | 2,28                                                                          | 58                                                                                                | 26,5                                         | 6,50                                                                                                   | 0,162                                                                                                                |
| 6,5                              | 1,65                                                                          | 49,5                                                                                              | 30                                           | 7,61                                                                                                   | 0,19                                                                                                                 |
| 9,2                              | 2,33                                                                          | 64                                                                                                | 27,5                                         | 6,95                                                                                                   | 0,174                                                                                                                |
| 7                                | 1,77                                                                          | 42,5                                                                                              | 24                                           | 6,07                                                                                                   | 0,151                                                                                                                |
| 9,3                              | 2,35                                                                          | 61                                                                                                | 26                                           | 6,56                                                                                                   | 0,164                                                                                                                |
| 10,2                             | 2,6                                                                           | 67,6                                                                                              | 26                                           | 6,62                                                                                                   | 0,164                                                                                                                |
| 4,3                              | 1,08                                                                          | 28,5                                                                                              | 27                                           | 6,62                                                                                                   | 0,165                                                                                                                |
| 9                                | 2,3                                                                           | 65                                                                                                | 29                                           | 7,22                                                                                                   | 0,18                                                                                                                 |
| 7                                | 1,77                                                                          | 53,5                                                                                              | 32                                           | 7,64                                                                                                   | 0,19                                                                                                                 |
| 7,3                              | 1,9                                                                           | 57                                                                                                | 35                                           | 7,60                                                                                                   | 0,19                                                                                                                 |
| 9                                | 2,28                                                                          | 78                                                                                                | 35                                           | 7,60                                                                                                   | 0,21                                                                                                                 |

1° Dose minimum mortelle moyenne par kilogramme d'animal :  
0 milligr. 167.

2° Règle de LIND VAN WIJNGAARDEN.

Écart moyen :  $d = 0,61793$ .

Écart moyen p. 100 :  $d \% = 10,74, 6,67\sqrt{n-1} = 29,08$ .

Ainsi l'écart moyen pour 100 est  $< 6,67\sqrt{n-1}$ .

3° Calcul de l'erreur maximum p. 100 (d'après TREVAN).

Écart individuel moyen :  $E = \sqrt{\frac{d^2}{n(n-1)}} = 0,00092$ .

Erreur maximum pour 100 =  $\frac{300E}{0,167} = 1,65$ .

Dans des essais ultérieurs effectués avec un échantillon d'ouabaïne

dont la teneur en eau est de 21,5 %, nous avons utilisé 7 chiens. La perfusion dans la veine fémorale a été effectuée à raison de 0 milligr. 0233 par centimètre cube, soit 0 milligr. 00382 par kilogramme et par minute. Telle qu'elle apparaît dans le tableau II, la durée de l'expérience a oscillé entre vingt-huit et trente et une minutes et demie. La toxicité en ouabaine à 21,5 % d'eau est de 0 milligr. 1778.

TABLEAU II.

| POIDS DU CHIEN<br>en kilogrammes | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>sol. d'ouabaine<br>(0 milligr. 025<br>par cent. cube)<br>perfusés<br>par minute | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>sol. d'ouabaine<br>(0 milligr. 025<br>par cent. cube)<br>perfusés<br>par minute | DURÉE<br>de la<br>perfusion<br>en<br>minutes | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>sol. d'ouabaine<br>(0 milligr. 025<br>perfusés<br>par<br>kilogramme<br>d'animal | QUANTITÉ<br>d'ouabaine<br>perfusée<br>par<br>kilogramme<br>en<br>milligrammes |
|----------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|
| 7,2 + OQ <sup>+</sup> . . . . .  | 1,68                                                                                                                 | 61,32                                                                                                                | 36,5                                         | 8,51                                                                                                                 | 0,21                                                                          |
| 9 + OQ <sup>+</sup> . . . . .    | 2,1                                                                                                                  | 54,6                                                                                                                 | 26                                           | 6,06                                                                                                                 | 0,151                                                                         |
| 9,5 + OQ <sup>+</sup> . . . . .  | 2,22                                                                                                                 | 58                                                                                                                   | 26,5                                         | 6,10                                                                                                                 | 0,152                                                                         |
| 6 + OQ <sup>+</sup> . . . . .    | 1,4                                                                                                                  | 37,8                                                                                                                 | 27                                           | 6,30                                                                                                                 | 0,157                                                                         |
| 7 + OQ <sup>+</sup> . . . . .    | 1,63                                                                                                                 | 48,81                                                                                                                | 30                                           | 6,98                                                                                                                 | 0,174                                                                         |
| 9,1 + OQ <sup>+</sup> . . . . .  | 2,12                                                                                                                 | 72,08                                                                                                                | 34                                           | 7,92                                                                                                                 | 0,198                                                                         |
| 5,8 + OQ <sup>+</sup> . . . . .  | 1,39                                                                                                                 | 45,9                                                                                                                 | 34                                           | 7,91                                                                                                                 | 0,197                                                                         |

1° Dose minimum mortelle moyenne par kilogramme d'animal  
= 0 milligr. 1778.

2° Règle de LIND VAN WIJNGAARDEN.

Écart moyen :  $d = 0,029$ .

Écart moyen pour 100 :  $d\% = 11,8$  ;  $6,67\sqrt{n-1} = 16,33$ .

Ainsi l'écart moyen pour 100 est  $< 6,67\sqrt{n-1}$ .

3° Calcul de l'erreur maximum pour 100 (d'après TREVAN).

Ecart individuel moyen :  $E = \sqrt{\frac{d^2}{n(n-1)}} = 0,00323$ .

Erreur maximum pour 100 =  $\frac{300 E}{0,1778} = 5,45$ .

La dose minimum mortelle de l'ouabaine a été déterminée en effectuant la moyenne des deux séries d'essais consignés dans les tableaux I et II. Déterminée sur le chien par perfusion continue d'une durée de trente minutes, la dose minimum mortelle de l'ouabaine ARNAUD est, par kilogramme d'animal, de 0 milligr. 1364 exprimée en ouabaine anhydre, de 0 milligr. 173 en ouabaine cristallisée à 9H<sup>2</sup>O et de 0 milligr. 1705 en ouabaine à 19,94 % d'eau.

TABLEAU III.

|                                                                                                                        | PREMIÈRE<br>série | DEUXIÈME<br>série | MOYENNE |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|-------------------|---------|
| Nombre des essais . . . . .                                                                                            | 20                | 7                 | 27      |
| Quantité d'ouabaine cristallisée<br>par kilogramme et par minute,<br>en milligrammes . . . . .                         | 0,0063            | 0,0088            | »       |
| Teneur en H <sup>2</sup> O p. 100 . . . . .                                                                            | 19,8              | 21,5              | »       |
| Dose mortelle en ouabaine expé-<br>rimentée par kilogramme d'ani-<br>mal, en milligrammes . . . . .                    | 0,167             | 0,1778            | 0,173   |
| Dose mortelle en ouabaine anhydre<br>par kilogramme d'animal, en<br>milligrammes . . . . .                             | 0,1339            | 0,139             | 0,1364  |
| Dose minimum mortelle en oua-<br>baine étalon à 19,94 % d'eau<br>par kilogramme d'animal, en<br>milligrammes . . . . . | 0,167             | 0,173             | 0,1703  |
| Dose minimum mortelle en oua-<br>baine à 9 H <sup>2</sup> O par kilogramme<br>d'animal, en milligrammes. . .           | 0,170             | 0,176             | 0,173   |

B. TOXICITÉ DE LA G. STROPHANTHINE. — La G. strophanthine, fournie par le professeur THOMS, a une teneur en eau de 8,97 %; après recristallisation, sa teneur en eau s'élève à 20,07; son pouvoir rotatoire spécifique  $\alpha_d = -28,88$  (°); c'est sur ce dernier produit que nous avons effectué les essais biologiques.

Nous avons préparé avec la G. strophanthine contenant 20,07 % d'eau une solution titrant 0 milligr. 025 par centimètre cube. Cette solution est obtenue en diluant au centième dans l'eau distillée 1 cm<sup>3</sup> d'une solution alcoolique d'ouabaine préparée elle-même en dissolvant 50 milligr. d'ouabaine dans 20 cm<sup>3</sup> d'alcool absolu.

Nous avons effectué deux séries d'essais consignés dans les tableaux IV et V. Dans une première série, nous avons perfusé dans la fémorale du chien la solution que nous avons définie ci-dessus, à raison de 0 cm<sup>3</sup> 25, soit 0 milligr. 00625 par kilogramme et par minute. La durée de la perfusion a varié de vingt-deux à trente et une minutes. Dans une deuxième série d'essais mentionnée dans le tableau V, nous avons perfusé la même solution à raison de 0 cm<sup>3</sup> 233, soit 0 milligr. 00582 par kilogramme et par minute. La durée de la perfusion a varié de vingt et une à trente-quatre minutes.

1° *Dose minimum mortelle moyenne par kilogramme d'animal*, 0 milligr. 1683.

2° *Règle de LIND VAN WIJNGAARDEN.*

1. Ces chiffres nous ont été fournis d'après M. HASENFRATZ.

Écart moyen :  $d = 0,0199$ .

Écart moyen pour 100 :  $d\% = 11,8$ ;  $6,67\sqrt{n-1} = 13,34$ .

Ainsi l'écart moyen pour 100 est  $< 6,67\sqrt{n-1}$ .

3° Calcul de l'erreur maximum pour 100 (d'après TREVAN).

Écart individuel moyen :  $E\sqrt{\frac{d^2}{n(n-1)}} = 0,0045$ .

Erreur maximum pour 100 =  $\frac{300 E}{0,1685} = 8,01$ .

TABLEAU IV.

| POIDS DU CHIEN<br>en kilogrammes | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>de<br>G. strophanthine<br>(0 milligr. 025<br>par cent. cube)<br>perfusés<br>par minute | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>de<br>G. strophanthine<br>(0 milligr. 025<br>par cent. cube)<br>perfusés<br>par minute | DURÉE<br>de la<br>perfusion<br>en<br>minutes | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>de<br>G. strophanthine<br>perfusés<br>par<br>kilogramme<br>d'animal | QUANTITÉ<br>de<br>G. strophanthine<br>perfusée<br>par<br>kilogramme<br>en<br>milligrammes |
|----------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| 6,7                              | 1,7                                                                                                                                     | 46                                                                                                                                      | 27                                           | 6,88                                                                                                                 | 0,170                                                                                     |
| 7,2                              | 1,82                                                                                                                                    | 54,6                                                                                                                                    | 30                                           | 7,5                                                                                                                  | 0,189                                                                                     |
| 6,7                              | 1,69                                                                                                                                    | 53                                                                                                                                      | 31                                           | 7,91                                                                                                                 | 0,197                                                                                     |
| 6,5                              | 1,64                                                                                                                                    | 34                                                                                                                                      | 22                                           | 5,23                                                                                                                 | 0,130                                                                                     |
| 10,9                             | 2,76                                                                                                                                    | 69                                                                                                                                      | 22,5                                         | 6,33                                                                                                                 | 0,158                                                                                     |

TABLEAU V.

| POIDS DU CHIEN<br>en kilogrammes | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de<br>G. strophanthus<br>perfusés<br>par<br>kilogramme<br>d'animal | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>de<br>G. strophanthine<br>(0 milligr. 025<br>par cent. cube)<br>perfusés<br>par minute | DURÉE<br>de la<br>perfusion<br>en<br>minutes | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>de<br>G. strophanthine<br>(0 milligr. 025<br>par cent. cube)<br>perfusés<br>par minute | QUANTITÉ<br>de<br>G. strophanthine<br>par<br>kilogramme<br>d'animal<br>en<br>milligrammes |
|----------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| 7,9                              | 1,84                                                                                           | 53                                                                                                                                      | 30                                           | 6,70                                                                                                                                    | 0,167                                                                                     |
| 7,5                              | 1,77                                                                                           | 58,41                                                                                                                                   | 33                                           | 7,68                                                                                                                                    | 0,192                                                                                     |
| 7,1                              | 1,42                                                                                           | 49                                                                                                                                      | 33                                           | 6,90                                                                                                                                    | 0,172                                                                                     |
| 7,7                              | 1,8                                                                                            | 55,8                                                                                                                                    | 31                                           | 7,25                                                                                                                                    | 0,181                                                                                     |
| 7                                | 1,63                                                                                           | 34,23                                                                                                                                   | 21                                           | 4,89                                                                                                                                    | 0,122                                                                                     |
| 8,8                              | 2,02                                                                                           | 63,5                                                                                                                                    | 33                                           | 7,21                                                                                                                                    | 0,180                                                                                     |
| 7,9                              | 1,84                                                                                           | 62,3                                                                                                                                    | 34                                           | 7,87                                                                                                                                    | 0,196                                                                                     |

1° Dose minimum mortelle moyenne par kilogramme d'animal,  
0 milligr. 1725.

2° Règle de LIND VAN WIJNGAARDEN.

Écart moyen :  $d = 0,0163$ .

Écart moyen pour 100 :  $d\% = 9,4$ ;  $6,67\sqrt{n-1} = 16,33$ .

Ainsi l'écart moyen pour 100 est  $< 6,67\sqrt{n-1}$ .

3° Calcul de l'erreur maximum pour 100 (d'après TREVAN).

Écart individuel moyen :  $E = \sqrt{\frac{d^2}{n(n-1)}} = 0,00235$ .

Erreur maximum pour 100  $= \frac{300}{0,1725} E = 4,44$ .

La dose minimum mortelle de la G. strophanthine, contenant 20,07 % d'eau, a été calculée en effectuant la moyenne de ces deux séries d'essais ci-dessus. On peut en conclure (tableau VI) que la dose

TABLEAU VI.

|                                                                                                                                | PREMIÈRE<br>série | DEUXIÈME<br>série | MOYENNE |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|-------------------|---------|
| Nombre des essais . . . . .                                                                                                    | 5                 | 7                 | 12      |
| Quantité de G. strophanthine cristallisée injectée par kilogramme et par minute en milligrammes.                               | 0,00625           | 0,00582           | "       |
| Teneur en H <sup>2</sup> O % de la G. strophanthine . . . . .                                                                  | 20,07             | 20,07             | "       |
| Dose minimum mortelle en G. strophanthine à 20,07 % d'eau par kilogramme d'animal, en milligrammes . . . . .                   | 0,168             | 0,1725            | 0,170   |
| Dose minimum mortelle en G. strophanthine cristallisée à 9 H <sup>2</sup> O par kilogramme d'animal, en milligrammes . . . . . | 0,170             | 0,175             | 0,172   |
| Dose minimum mortelle en G. strophanthine anhydre par kilogr. d'animal, en milligrammes. . .                                   | 0,134             | 0,138             | 0,136   |

minimum mortelle du produit contenant 20,07 % d'eau est de 0 milligr. 170. Rapportée au produit cristallisé à 9 H<sup>2</sup>O elle est de 0 milligr. 172 et de 0 milligr. 136 exprimée en produit anhydre. Elle est donc sensiblement identique à celle de l'ouabaïne ARNAUD.

C. TOXICITÉ DE L'OUABAÏNE STANDARD (ÉTATS-UNIS). — L'ouabaïne standard des États-Unis sur laquelle nous avons effectué quelques essais de toxicité nous a été fournie par le professeur Mc CLOSKEY.

Ce produit a une teneur moyenne de 11,1 % d'eau, deux déterminations ont donné les chiffres de 10,88 et 11,32 %; son pouvoir rotatoire spécifique  $\alpha_D = -30^{\circ}6$  (1). E. W. SCHWARTZ, R. M. HANN et

1. Ces chiffres nous ont été fournis par M. HASENFRATZ.

G. L. KEENAN<sup>(1)</sup> ont obtenu avec 5 préparations d'ouabaïne standard U. S. P. X. les teneurs en eau suivantes : 11,17; 12,97; 11,33; 12,01 et 12,03 dont la moyenne est 11,90. Les valeurs du pouvoir rotatoire spécifique  $\alpha_D$  varient de  $-31^{\circ}3$  à  $-32^{\circ}3$ . Leur moyenne est de  $-31^{\circ}7$ .

Nous avons préparé, pour les deux séries d'essais effectués, une solution contenant 0 milligr. 025 par centimètre cube d'ouabaïne standard U. S. P. X dont nous avons préalablement déterminé la teneur en eau. Cette solution est obtenue en diluant au centième dans de l'eau distillée 1 cm<sup>3</sup> d'une solution alcoolique d'ouabaïne préparée par dissolution de 50 milligr. d'ouabaïne dans 20 cm<sup>3</sup> d'alcool absolu.

Nous avons effectué deux séries d'essais consignés dans les tableaux VII et VIII. Dans la première série d'essais effectués avec une substance contenant 11,3 % d'eau, nous avons perfusé dans la fémorale du chien la solution ci-dessus indiquée à raison de 0 cm<sup>3</sup> 233, soit 0 milligr. 00582 par kilogramme et par minute; la durée de la perfusion a varié de vingt-trois à vingt-neuf minutes.

TABLEAU VII.

| POIDS DU CHIEN<br>par kilogramme | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>d'ouabaïne<br>U. S. P. X.<br>(0 milligr. 025<br>par cent. cube<br>perfusés<br>par minute | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>d'ouabaïne<br>U. S. P. X.<br>(0 milligr. 025<br>par cent. cube<br>perfusés | DURÉE<br>de la<br>perfusion<br>en<br>minutes | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>d'ouabaïne<br>U. S. P. X.<br>perfusés<br>par<br>kilogramme<br>d'animal | QUANTITÉ<br>d'ouabaïne<br>U. S. P. X.<br>par<br>kilogramme<br>en<br>milligrammes |
|----------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|
| 9 ♀ . . . . .                    | 2,1                                                                                                                  | 58,8                                                                                                   | 28                                           | 6,53                                                                                                                    | 0,163                                                                            |
| 11 ♀ . . . . .                   | 2,57                                                                                                                 | 73,5                                                                                                   | 28                                           | 6,68                                                                                                                    | 0,167                                                                            |
| 7,1 ♀ . . . . .                  | 1,65                                                                                                                 | 48,25                                                                                                  | 25                                           | 6,8                                                                                                                     | 0,170                                                                            |
| 8,3 ♀ . . . . .                  | 1,94                                                                                                                 | 44,62                                                                                                  | 23                                           | 5,37                                                                                                                    | 0,134                                                                            |
| 9,3 ♀ . . . . .                  | 2,17                                                                                                                 | 55                                                                                                     | 25                                           | 5,91                                                                                                                    | 0,147                                                                            |
| 7,4 ♀ . . . . .                  | 1,72                                                                                                                 | 49                                                                                                     | 29                                           | 6,62                                                                                                                    | 0,165                                                                            |
| 7 ♀ . . . . .                    | 1,63                                                                                                                 | 40                                                                                                     | 24                                           | 5,71                                                                                                                    | 0,142                                                                            |

1° Dose minimum mortelle moyenne par kilogramme d'animal, 0 milligr. 1557.

2° Règle de LIND VAN WIJNGAARDEN.

Écart moyen :  $d = 0,0123$ .

Écart moyen pour 100 :  $d \% = 7,8; 6,7 \sqrt{n-1} = 16,33$ .

Ainsi l'écart moyen pour 100 est  $< 6,67 \sqrt{n-1}$ .

3° Calcul de l'erreur maximum pour 100 (d'après TREVAN).

Écart individuel moyen :  $E = \sqrt{\frac{\sigma^2}{n(n-1)}} = 0,0019$ .

Erreur maximum pour 100  $= \frac{300 E}{0,1557} = 3,66$ .

1. Loc. cit.

Dans une deuxième série d'essais effectués sur une substance contenant 9,45 % d'eau, nous avons perfusé dans la fémorale du chien une solution contenant 0 milligr. 025 par centimètre cube à raison de 0 cm<sup>3</sup> 233, soit 0 milligr. 00582 par kilogramme et par minute; la durée de la perfusion dans ces essais a varié de vingt-six à trente minutes.

TABLEAU VIII.

| POIDS DU CHIEN<br>en kilogrammes | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>d'ouabaïne<br>U. S. P. X.<br>(0 milligr. 025<br>par cent. cube)<br>perfusés<br>par minute | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>d'ouabaïne<br>U. S. P. X.<br>(0 milligr. 025<br>par cent. cube)<br>perfusés | DURÉE<br>de la<br>perfusion<br>en<br>minutes | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>d'ouabaïne<br>U. S. P. X.<br>perfusés<br>par minute | QUANTITÉ<br>d'ouabaïne<br>U. S. P. X.<br>par<br>kilogramme<br>en<br>milligrammes |
|----------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|
| 8,5 ♂ . . . . .                  | 2                                                                                                                     | 55                                                                                                      | 27                                           | 6,3                                                                                                  | 0,157                                                                            |
| 7,6 ♂ . . . . .                  | 2,1                                                                                                                   | 61,1                                                                                                    | 28                                           | 6,35                                                                                                 | 0,158                                                                            |
| 6,4 ♂ . . . . .                  | 1,5                                                                                                                   | 46                                                                                                      | 30                                           | 7,1                                                                                                  | 0,177                                                                            |
| 6 ♂ . . . . .                    | 1,4                                                                                                                   | 36,7                                                                                                    | 26                                           | 6,1                                                                                                  | 0,152                                                                            |
| 8,8 ♂ . . . . .                  | 2                                                                                                                     | 55                                                                                                      | 27                                           | 6,25                                                                                                 | 0,156                                                                            |
| 6,5 ♂ . . . . .                  | 1,5                                                                                                                   | 43                                                                                                      | 28                                           | 6,6                                                                                                  | 0,165                                                                            |

1° Dose minimum mortelle moyenne par kilogramme d'animal, 0 milligr. 160.

2° Règle de LIND VAN WIJNGAARDEN.

Écart moyen :  $d = 0,0065$ .

Écart moyen pour 100 :  $d \% = 4,06$ ;  $6,67 \sqrt{n-1} = 14,9$ .

Ainsi l'erreur maximum est  $< 6,67 \sqrt{n-1}$ .

3° Calcul de l'erreur maximum pour 100 (d'après TREVAN).

Écart individuel moyen :  $E \sqrt{\frac{d^2}{n(n-1)}} = 0,0012$ .

Erreur maximum pour 100 =  $\frac{300 E}{0,160} = 2,25$ .

La dose minimum mortelle de l'ouabaïne standard U. S. P. X. a été calculée en effectuant la moyenne des deux séries d'essais consignés dans les tableaux VII et VIII.

On peut en conclure (voir tableau IX) que la dose minimum mortelle est de 0 milligr. 1385 en produit contenant 11,1 % d'eau, de 0,178 en produit cristallisé à 9H<sup>2</sup>O et de 0 milligr. 140 en produit anhydre. Elle est donc sensiblement identique à celle de l'ouabaïne cristallisée ARNAUD et à celle de la G. strophanthine.

D. ÉTALON INTERNATIONAL. — D'après les différents essais exposés ci-dessus, il apparaît que, déterminées sur le chien par perfusion continue d'une durée de trente minutes, suivant la méthode d'HATCHER-

TABLEAU IX.

|                                                                                                                                      | PREMIÈRE<br>série | DEUXIÈME<br>série | MOYENNES |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|-------------------|----------|
| Nombre des essais. . . . .                                                                                                           | 7                 | 6                 | 43       |
| Quantité d'ouabaïne U. S. P. X.<br>cristallisée injectée par kilo-<br>gramme et par minute. . . . .                                  | 0,0038            | 0,0058            | "        |
| Teneur en H <sup>2</sup> O % d'ouabaïne<br>U. S. P. X. . . . .                                                                       | 11.3              | 9.45              | "        |
| Dose minimum mortelle d'oua-<br>baïne U. S. P. X. à 11,1 % d'eau<br>par kilogramme d'animal, en<br>milligrammes . . . . .            | 0,155             | 0,162             | 0,1585   |
| Dose minimum mortelle d'oua-<br>baïne U. S. P. X cristallisée à<br>9 H <sup>2</sup> O par kilogramme, en milli-<br>grammes . . . . . | 0,175             | 0,181             | 0,178    |
| Dose minimum mortelle d'oua-<br>baïne U. S. P. X. anhydre par<br>kilogramme d'animal, en milli-<br>grammes . . . . .                 | 0,138             | 0,143             | 0,140    |

MAGNUS, les doses minima mortelles de l'ouabaïne ARNAUD, de la G. strophanthine et de l'étalon des États-Unis sont identiques, pourvu qu'on rapporte le titre de la solution, soit au produit cristallisé à 9H<sup>2</sup>O, soit au produit anhydre. Aussi l'un quelconque de ces trois produits aurait pu constituer l'étalon international.

Nos essais montrent, en outre, que l'ouabaïne cristallisée à 9H<sup>2</sup>O, c'est-à-dire contenant 21,33 % d'eau de cristallisation, est assez stable à l'air libre. Elle peut être manipulée sans aucune précaution pendant un temps court, par exemple le temps d'une pesée ou celui de la mise en ampoules, sans que sa teneur en eau change sensiblement. Il n'en est pas de même avec l'ouabaïne anhydre qui, exposée à l'air, reprend peu à peu l'humidité (tableau X).

TABLEAU X.

| QUANTITÉ<br>d'ouabaïne<br>anhydre<br>sur laquelle<br>on effectue<br>le dosage | REPRISE<br>d'eau<br>pour 100<br>en<br>5 minutes | REPRISE<br>d'eau<br>pour 100<br>en<br>10 minutes | REPRISE<br>d'eau<br>pour 100<br>en<br>15 min. | REPRISE<br>d'eau<br>pour 100<br>en<br>3 heures | REPRISE<br>d'eau<br>pour 100<br>en<br>24 heures |
|-------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|--------------------------------------------------|-----------------------------------------------|------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| 70 milligr. 50                                                                | 0,7                                             | 1,7                                              | 2,03                                          | 3,58                                           | 12,05                                           |

La constance de composition de l'ouabaïne anhydre est très difficile à assurer, même en effectuant les manipulations dans l'air sec ou sous le vide qui rend d'ailleurs l'expérimentation plus difficile. Il semblait donc préférable d'utiliser comme étalon le produit cristallisé sur lequel on effectuera un dosage biologique et une détermination de la teneur en

eau. On prélèvera simultanément deux échantillons dont l'un servira à la détermination de l'eau de cristallisation et l'autre au dosage biologique. On évitera de conserver préalablement ce dernier produit dans un dessiccateur à acide sulfurique, car l'ouabaïne cristallisée perd, dans ces conditions, peu à peu son eau de cristallisation (voir tableau XI).

TABEAU VI.

| QUANTITÉ<br>d'ouabaïne<br>cristal. à 9 H <sup>2</sup> O<br>sur laquelle<br>est effectué<br>le dosage<br>(grammes) | PERTE DE POIDS<br>pour 100<br>après 24 heures<br>dans un<br>dessiccateur<br>à acide sulfurique | PERTE DE POIDS<br>pour 100<br>après 64 heures<br>dans un<br>dessiccateur<br>à acide sulfurique | PERTE DE POIDS<br>pour 100<br>après 102 heures<br>dans un<br>dessiccateur<br>à acide sulfurique | PERTE DE POIDS<br>pour 100<br>après 240 heures<br>dans un<br>dessiccateur<br>à acide sulfurique |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 0,2145                                                                                                            | 2,3                                                                                            | 5,6                                                                                            | 12,8                                                                                            | 13,9                                                                                            |

Nous indiquons ci-dessous les propriétés physiques et la toxicité de l'ouabaïne qui constituera le prochain étalon international remis par M. le professeur TIFFENEAU à M. le professeur DALE qui en assurera la conservation.

L'ouabaïne, étalon international, est le glucoside cristallisé extrait du *Strophanthus gratus* qu'on désigne aussi parfois sous le nom de G. strophanthine. Sa teneur en eau est 19,94 %; son pouvoir rotatoire, rapporté au produit anhydre, est  $\alpha_D = -30^\circ$ . Sa toxicité, déterminée sur le chien, par perfusion continue d'une durée de trente minutes environ, suivant la méthode d'HATCHER-MAGNUS, est de 0 milligr. 1364 par kilogramme d'animal en ouabaïne anhydre, soit 0 milligr. 173 pour l'ouabaïne cristallisée à 9H<sup>2</sup>O et 0 milligr. 1705 pour l'ouabaïne étalon contenant 19,94 % d'eau. Ainsi, 1 milligr. d'ouabaïne étalon contient 5,78 unités chien (l'unité chien était la dose minimum mortelle exprimée en milligrammes par kilogramme de chien). Des essais effectués sur le chat par BURN et SINGH GREWAL<sup>(1)</sup> sur le même produit leur ont donné comme dose minimum mortelle d'ouabaïne cristallisée avec 19,94 % d'eau : 0 milligr. 1076, soit 0 milligr. 061 d'ouabaïne anhydre. Ainsi, 1 milligr. d'ouabaïne étalon contient 13,1 unités chat.

L'étalon ouabaïne est conservé au National Institute for Medical Research London, par fraction de 100 milligrammes contenus dans de petites ampoules de verre hermétiquement closes.

## II. — TEINTURES DE STROPHANTHUS.

Parmi les préparations galéniques utilisées comme médicaments cardiaques, les teintures de strophanthus ont été signalées, à diverses

1. BURN et SINGH GREWAL. *Quart. Journ. Pharm. and Pharm.*, 1929, 2, p. 404.

reprises, comme possédant une activité variable (<sup>1</sup>). Les différents auteurs qui se sont occupés de la question ont utilisé comme étalon l'ouabaïne et choisi comme animal d'expérience tantôt la grenouille [BURN et TREVAN] (<sup>2</sup>), tantôt le chat [BURN et TREVAN] (<sup>2</sup>) [BURN et SINGH GREWAL] (<sup>3</sup>), tantôt le cobaye.

D'ailleurs, ce dosage biologique est déjà entré dans le domaine pratique; la Pharmacopée des États-Unis l'a inscrit à sa dernière édition. Elle utilise la grenouille et l'essai s'effectue sur la teinture diluée au 1/10 dans le sérum dont on injecte 0 cm<sup>3</sup> 5 à une grenouille d'un poids déterminé (20 à 25 gr.). On doit opérer par comparaison avec l'ouabaïne dont on injecte 0 milligr. 011 à 0 milligr. 014 par animal. La pharmacopée exige que 1 cm<sup>3</sup> de teinture diluée au 1/10 ait une toxicité équivalente à 8 milligr. d'ouabaïne.

Etant données les grandes divergences qui existent entre les résultats des divers expérimentateurs, nous avons voulu effectuer quelques dosages de teintures commerciales françaises de strophanthus. Nous avons utilisé pour les essais biologiques la méthode de perfusion lente chez le chien. Nous avons expérimenté sur trois teintures de prove-

TABLEAU XII.

| POIDS DU CHIEN<br>en kilogrammes | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>sol. au 1/100<br>de teinture<br>(1 milligr.<br>par cent. cube)<br>perfusés<br>par minute | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>sol. au 1/100<br>de teinture<br>(1 milligr.<br>par cent. cube)<br>perfusés | DURÉE<br>de la<br>perfusion<br>en<br>minutes | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>perfusés<br>en<br>milligrammes<br>par<br>kilogramme<br>d'animal | QUANTITÉ<br>de<br>strophanthus<br>perfusée<br>par<br>kilogramme<br>en<br>grammes |
|----------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|
| 8 ♀ . . . . .                    | 2                                                                                                                             | 38                                                                                                              | 19                                           | 4,75                                                                                                             | 0,00475                                                                          |
| 7,4 ♂ . . . . .                  | 1,6                                                                                                                           | 33,5                                                                                                            | 24                                           | 4,52                                                                                                             | 0,00452                                                                          |
| 7,5 ♂ . . . . .                  | 1,31                                                                                                                          | 32,44                                                                                                           | 24                                           | 4,32                                                                                                             | 0,00432                                                                          |
| 6,5 ♂ . . . . .                  | 1,14                                                                                                                          | 26,22                                                                                                           | 26                                           | 4,033                                                                                                            | 0,00403                                                                          |
| 5,7 ♂ . . . . .                  | 0,85                                                                                                                          | 22,2                                                                                                            | 26                                           | 3,894                                                                                                            | 0,003894                                                                         |
| 7,2 ♂ . . . . .                  | 1,08                                                                                                                          | 30,24                                                                                                           | 28                                           | 4,20                                                                                                             | 0,0042                                                                           |

nances différentes toutes préparées à partir du *Strophanthus Hispidus* (voir tableau XII).

Tous nos essais ont été conduits de la même façon. La solution utilisée a été préparée par dilution au 1/100 de la teinture officinale au 1/10 et contient par conséquent 1 milligr. de strophanthus par centi-

1. WARD. *Can. Med. Assoc. J.*, 1920, **16**, p. 409; *Can. Med. Assoc. J.*, 1926, **16**, p. 1484.

2. BURN et TREVAN. *Pharm. J.*, 1926, **117**, p. 439; *Pharm. J.*, 1926, **117**, p. 441.

3. BURN et SINGH GREWAL. *Quart. Journ. of Pharm. and Pharm.*, 1929, **2**, p. 404.

mètre cube. Après quelques déterminations préliminaires, la quantité perfusée par kilogramme et par minute a été fixée à 0 cm<sup>3</sup> 13, soit 0 gr. 00013 de strophanthus. Nous avons calculé la dose minimum mortelle en effectuant la moyenne d'une série d'essais identiques.

La première série d'expériences (échantillon A fourni par la Pharmacie Centrale des Hôpitaux) a été effectuée sur 6 chiens, la durée de la perfusion a varié entre dix-neuf et vingt-huit minutes; la dose minimum mortelle a été de 4 cm<sup>3</sup> 286 par kilogramme d'animal, soit 0 gr. 004286 de strophanthus.

1° *Dose minimum mortelle moyenne par kilogramme d'animal*,  
0 gr. 00428.

2° *Règle de* LIND VAN WIJNGAARDEN.

Écart moyen :  $d = 0,00024$ .

Écart moyen pour 100 :  $d \% = 5,6. 6,67 \sqrt{n-1} = 14,9$ .

Ainsi l'écart moyen pour 100 est  $< 6,67 n - 1$ .

3° *Calcul de l'erreur maximum pour 100 (d'après TREVAN)*.

Écart individuel moyen :  $E = \sqrt{\frac{d^2}{n(n-1)}} = 0,000044$ .

Erreur maximum pour 100  $\frac{300 E}{0,00428} = 3,08$ .

Nous avons ensuite opéré sur un échantillon B fourni par la firme DAUSSE. Nos essais ont porté sur 4 chiens. Le rythme de la perfusion était identique à celui de la série précédente, soit 0 gr. 00013 de strophanthus par kilogramme et par minute; la mort est survenue entre vingt-cinq et trente-trois minutes. La dose minimum mortelle a été de 4 cm<sup>3</sup> 36 par kilogramme d'animal, soit 0 gr. 00436 de strophanthus.

TABEAU XIII.

| POIDS DU CHIEN<br>en kilogrammes | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>de teinture<br>au 1/100<br>(1 milligr.<br>par cent. cube)<br>perfusés<br>par minute | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>de teinture<br>au 1/100<br>(1 milligr.<br>par cent. cube)<br>perfusés | DURÉE<br>de la<br>perfusion<br>en<br>minutes | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>de teinture<br>au 1/100<br>perfusés<br>par<br>kilogramme<br>d'animal | QUANTITÉ<br>de<br>strophanthus<br>perfusée<br>par<br>kilogramme<br>en grammes |
|----------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|
| 5,9 ♂ . . . . .                  | 0,9                                                                                                                                  | 27,9                                                                                                                   | 31                                           | 4.73                                                                                                                  | 0.00473                                                                       |
| 6 ♂ . . . . .                    | 0,9                                                                                                                                  | 25,7                                                                                                                   | 29                                           | 4.28                                                                                                                  | 0.00428                                                                       |
| 6,1 ♂ . . . . .                  | 0,9                                                                                                                                  | 29,6                                                                                                                   | 33                                           | 4.83                                                                                                                  | 0.00483                                                                       |
| 9,1 ♂ . . . . .                  | 1,3                                                                                                                                  | 32,8                                                                                                                   | 25                                           | 3,6                                                                                                                   | 0.0036                                                                        |

1° *Dose minimum mortelle moyenne par kilogramme d'animal* :  
0 milligr. 00436.

2° Règle de LIND VAN WIJNGAARDEN.

Écart moyen :  $d = 0,00042$ .

Écart moyen pour 100 :  $d\% = 9,63$  ;  $6,67\sqrt{n-1} = 11,72$ .

Ainsi l'écart moyen pour 100 est  $< 6,67\sqrt{n-1}$ .

3° Calcul de l'erreur maximum (d'après TREVAN).

Écart individuel moyen :  $E = \sqrt{\frac{d^2}{n(n-1)}} = 0,000171$ .

Erreur maximum pour 100 =  $\frac{300 E}{0,00436} = 11,75$ .

Une troisième série d'essais a été effectuée, dans des conditions identiques, avec un échantillon C de teinture fournie par la firme « Pharmacie Centrale de France ». L'expérience a porté sur 4 chiens : la durée de la perfusion a varié entre vingt-huit et trente-six minutes. La dose minimum mortelle a été de 4 cm<sup>3</sup> 75 par kilogramme d'animal, soit 0 gr. 00475 de strophanthus.

TABEAU XIV.

| POIDS DU CHIEN<br>par kilogramme | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>au 1/100<br>de la<br>teinture<br>(1 milligr.<br>par cent. cube)<br>perfusés<br>par minute | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>au 1/100<br>de la<br>teinture<br>(1 milligr.<br>par cent. cube)<br>perfusés | DURÉE<br>de la<br>perfusion<br>en<br>minutes | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>(1 milligr.<br>par cent. cube)<br>perfusés<br>par<br>kilogramme<br>d'animal | QUANTITÉ<br>de<br>strophanthus<br>perfusée<br>par<br>kilogramme<br>en<br>grammes |
|----------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|
| 9,3 ♂ . . . . .                  | 1,4                                                                                                                                        | 50                                                                                                                           | 35                                           | 5,37                                                                                                                         | 0,00537                                                                          |
| 7,4 ♀ . . . . .                  | 1,1                                                                                                                                        | 30                                                                                                                           | 30                                           | 4,05                                                                                                                         | 0,00405                                                                          |
| 6 ♂ . . . . .                    | 0,90                                                                                                                                       | 25,3                                                                                                                         | 28                                           | 4,21                                                                                                                         | 0,00421                                                                          |
| 6,1 ♂ . . . . .                  | 0,915                                                                                                                                      | 33                                                                                                                           | 36                                           | 3,40                                                                                                                         | 0,0054                                                                           |

1° Dose minimum mortelle moyenne par kilogramme d'animal :  
0 gr. 00475.

2° Règle de LIND VAN WIJNGAARDEN.

Écart moyen :  $d = 0,00062$ .

Écart moyen pour 100 :  $d\% = 13,09$  ;  $6,67\sqrt{n-1} = 11,7$ .

Ainsi l'écart individuel moyen pour 100 est  $> 6,67\sqrt{n-1}$ .

3° Calcul de l'erreur maximum (d'après TREVAN).

Écart individuel moyen :  $E = \sqrt{\frac{d^2}{n(n-1)}} = 0,000179$ .

Erreur maximum pour 100 =  $\frac{300 E}{0,0047575} = 11,5$ .

Dans le tableau récapitulatif (XV) les doses minima mortelles sont

exprimées, d'une part en grammes de strophanthus, d'autre part en ouabaïne étalon et en ouabaïne anhydre.

TABLEAU XV.

| TEINTURES | NOMBRE<br>d'expériences | DOSE MINIMUM<br>mortelle<br>en grammes<br>en strophanthus | ACTIVITÉ DE 1 CM <sup>3</sup><br>de teinture au 1/10<br>exprimée<br>en milligrammes<br>d'ouabaïne étalon | ACTIVITÉ DE 1 CM <sup>3</sup><br>de teinture au 1/10<br>exprimée<br>en milligrammes<br>d'ouabaïne anhydre |
|-----------|-------------------------|-----------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| A         | 6                       | 0,004285                                                  | 3,97                                                                                                     | 3,17                                                                                                      |
| B         | 4                       | 0,00436                                                   | 5,89                                                                                                     | 3,12                                                                                                      |
| C         | 4                       | 0,0047575                                                 | 3,50                                                                                                     | 2,37                                                                                                      |

Si l'on compare les chiffres indiqués ci-dessus à ceux que certains auteurs ont obtenus avec les diverses teintures de strophanthus, on remarque une différence qui n'est pas sans surprendre. Tandis que le titre officiel de la Pharmacopée des États-Unis est voisin de 8, les chiffres de BURN et TREVAN, BURN GREWAL et les nôtres en diffèrent de près de 50 %.

TABLEAU XVI.

|                                         | ANIMAL<br>d'expérience | MÉTHODES     | NOMBRE<br>d'essais | ÉQUIVALENCE DE TOXICITÉ<br>exprimée<br>en milligrammes d'ouabaïne<br>en centimètres cubes<br>de teinture au 1/10 |
|-----------------------------------------|------------------------|--------------|--------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Pharmacopée U. S. P. X. .               | Grenouille.            | Inj. unique. | »                  | 8,3                                                                                                              |
| BURN (1) . . . . .                      | Chat.                  | Perf. lente. | 4                  | 3,46                                                                                                             |
| BURN et TREVAN (1) .                    | Grenouille.            | Inj. unique. | 2                  | 3,46                                                                                                             |
| BURN et SINGH GRE-<br>WAL (2) . . . . . | Chat.                  | Perf. lente. | 22                 | 4,5                                                                                                              |
| Expér. personnelles.                    | Chien.                 | Perf. lente. | 14                 | 3,05                                                                                                             |

Il semblerait, en première analyse, que l'écart considérable trouvée à la nature différente des animaux utilisés, surtout après les expériences de Mrs KROGH (3), mettant en évidence les différences d'action de la digitale sur deux variétés d'une même espèce animale (*Rana esculenta* et *Rana temporaria*). Pourtant, la concordance des résultats obtenus par BURN et TREVAN, expérimentant l'un sur le chat, l'autre sur la grenouille, par BURN et GREWAL utilisant le chat et par nous-même opérant sur le chien nous fait penser que les différences constatées sont imputables, non pas à l'espèce animale choisie pour l'expérimentation, mais bien aux préparations mêmes expérimentées (4).

1. Loc. cit.

2. Loc. cit.

3. MARIE KROGH. *Physiol. Papers dedicated to AUGUST KROGH*, 1926, p. 133.

4. Les écarts anormaux tiendraient plutôt à la diversité des espèces botaniques, de l'origine, ou du traitement industriel.

S'il en était ainsi, il y aurait intérêt à faire l'essai comparatif avec des échantillons commerciaux utilisés en clinique dans les différents pays. Nous pensons mettre à exécution ce projet, aussitôt que nous aurons réuni des produits de provenances diverses.

Grâce à cet examen, il serait alors possible de définir pour les teintures de strophanthus un titre moyen, qui permettrait aux différentes nations de standardiser ce médicament.

---

## CHAPITRE III

### SUBSTANCES DIGITALIQUES

---

La chimie des constituants de la digitale, sans cesse remaniée, a fait de grands progrès depuis les récents travaux de CLOETTA <sup>(1)</sup>, de WINDAUS <sup>(2)</sup> et de JACOBS, GUSTUS et HOFFMANN <sup>(3)</sup>. En effet, si les différents auteurs discutent encore les formules à attribuer aux constituants de la digitale, tous semblent être actuellement d'accord pour admettre qu'à côté de substances encore inconnues on peut isoler de cette drogue trois glucosides cristallisés ainsi que les trois génines correspondantes. CLOETTA a donné à ces six produits les noms suivants, digitaline, bigitaline, gitaline, digitoxigénine, bigitaligénine, gitaligénine. Nos connaissances sur l'action de ces substances ont été précisées par leur étude pharmacodynamique, effectuée par CLOETTA, GIACOMI <sup>(4)</sup> et LENZ <sup>(5)</sup> en 1926.

Malgré ces travaux, un problème se posait encore; il s'agissait d'identifier ou de distinguer, au point de vue de leur action thérapeutique, deux substances qui, selon les auteurs, avaient été confondues ou différenciées, la digitaline cristallisée NATIVELLE et la digitoxine allemande. En effet, SCHMIEDEBERG, en 1875, isole un glucoside actif, la digitoxine, qu'il considérait comme plus pur que la digitaline cristallisée découverte par NATIVELLE sept ans auparavant. Depuis cette époque, de nombreux expérimentateurs ont déterminé, par les méthodes les plus diverses, l'activité de ces substances sans parvenir toutefois à des conclusions semblables.

Le problème sembla se compliquer encore lorsque CLOETTA, en 1920.

1. CLOETTA. *Arch. exp. Path. u. Pharm.*, 1920, **88**, p. 113; 1926, **112**, p. 251.

2. WINDAUS. *Arch. exp. Path. u. Pharm.*, 1928, **135**; *Mach. Ges. Wiss. zu Cöttingen.*, 1928, **65**, p. 422.

3. JACOBS, GUSTUS, HOFFMANN. *Journ. Biol. Chem.*, 1928, **78**, p. 573; 1929, **79**, p. 553.

4. GIACOMI. *Archiv. exp. Pat. u. Pharm.*, 1926, **117**, p. 69.

5. LENZ. *Arch. exp. Path. and Pharm.*, 1926, **114**, p. 77.

isole une digitoxine cristallisée en paillettes de formule  $C^{55}H^{70}O^{14}$  qu'il considérait comme différente des digitalines et digitoxines commerciales, et qui représentait, pour lui, la véritable entité.

Ce n'est qu'en 1929 que des travaux systématiques furent entrepris par RAYMOND-HAMET <sup>(1)</sup> et par nous-même pour identifier ou différencier ces diverses substances. RAYMOND-HAMET opérant par la méthode de l'injection unique chez le chien non anesthésié compara la toxicité de la digitaline NATIVELLE et de la digitoxine CLOETTA et affirma leur identité d'action physiologique. C'est à la même époque que nous déterminions la toxicité de deux produits commerciaux que l'industrie française ou allemande fabrique pour les besoins journaliers de la clinique, digitaline NATIVELLE, digitoxine MERCK, et nous avons pu établir qu'elles avaient la même toxicité.

D'autre part, nous nous étions proposé d'utiliser la méthode de perfusion lente chez le chien pour déterminer les rapports qui existent entre les toxicités de quelques constituants cristallisés de la digitale, bigitaline et bigitaligénine. M. le professeur CLOETTA a bien voulu nous envoyer des échantillons de gitaline et de bigitaligénine et nous sommes heureux de pouvoir l'en remercier. Malheureusement, la faible solubilité dans l'eau de la gitaline ne nous a pas permis de déterminer sa toxicité par la méthode de perfusion lente et nous avons seulement expérimenté la bigitaligénine.

## I. — DIGITALINE.

Nous avons déterminé les toxicités relatives de la digitaline NATIVELLE et de la digitoxine MERCK par la méthode de perfusion lente sur le chien. Comme nous le verrons dans les résultats que nous exposerons en détail ci-dessous, il y a identité entre les doses toxiques déterminées par cette méthode pour les deux substances. Il apparaît donc plus logique, suivant la proposition de M. le professeur MERCIER <sup>(2)</sup>, de ne conserver dans la nomenclature que le terme de digitaline cristallisée, la découverte de NATIVELLE étant antérieure à celle de SCHMIEDEBERG <sup>(3)</sup>.

A. DIGITALINE NATIVELLE. — La digitaline est soluble dans l'eau, facilement soluble dans l'alcool à 90°, presque insoluble dans l'éther; son meilleur solvant est le chloroforme, qui la dissout sans résidu.

Dans la première série d'expériences que nous avons effectuées, la

1. RAYMOND-HAMET, *C. R. Ac. Sc.*, 1929, 488, p. 461.

2. F. MERCIER, *Bulletin Médical*, 1929, 15, p. 411.

3. Toutefois, nous tenons à faire remarquer, une fois de plus, qu'il y a lieu de différencier la digitaline du *digitalinum verum* de la semence de digitale.

quantité de digitaline injectée par kilogramme d'animal et par minute a été arbitrairement fixée à 0 milligr. 043, valeur un peu trop faible, puisque la mort a eu lieu dans un temps qui varie de vingt-huit à cinquante et une minutes. Nous avons alors modifié la quantité de digitaline injectée par kilogramme d'animal et par minute et nous l'avons fixée arbitrairement à 0 milligr. 056. Dans ces conditions, la mort a eu lieu entre vingt-sept et trente et une minutes. La dose minimum mortelle ainsi déterminée, représentée par un nombre un peu différent de celui obtenu dans les précédentes expériences, est certainement plus voisine de la dose minimum mortelle telle que nous l'avons définie ci-dessus.

Dans les deux séries d'expériences effectuées, la solution utilisée a été fraîchement préparée en diluant au 1/100 dans l'eau une solution alcoolique contenant 1 milligr. de digitaline cristallisée par centimètre cube d'alcool absolu. On injecte ainsi à l'animal 0 milligr. 1 par centimètre cube.

Dans la première série d'essais réunis dans le tableau XVII, la quantité de digitaline cristallisée injectée par kilogramme et par minute comme nous l'avons indiqué ci-dessus est d'environ 0 milligr. 043.

TABLEAU XVII.

| POIDS DU CHIEN<br>en kilogrammes | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>1/10.000<br>perfusés<br>par minute | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>1/10.000<br>perfusés | DURÉE<br>de la<br>perfusion<br>en<br>minutes | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>1/10.000<br>perfusés<br>par<br>kilogramme<br>d'animal | QUANTITÉ<br>de digitaline<br>perfusée<br>par<br>kilogramme<br>d'animal<br>en<br>milligrammes |
|----------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
| 7.7 ♀ . . . . .                  | 3.33                                                                                | 169,8                                                                 | 51                                           | 22                                                                                                     | 2.20                                                                                         |
| 7.7 ♂ . . . . .                  | 3.29                                                                                | 125                                                                   | 38                                           | 16,2                                                                                                   | 1.68                                                                                         |
| 9.3 ♂ . . . . .                  | 4.02                                                                                | 157                                                                   | 39                                           | 16,9                                                                                                   | 1.69                                                                                         |
| 9 ♂ . . . . .                    | 3,9                                                                                 | 160                                                                   | 41                                           | 17,7                                                                                                   | 1.77                                                                                         |

*Dose minimum mortelle par kilogramme d'animal pour une perfusion lente d'une durée de trente-huit à cinquante et une minutes = 1 milligr. 82.*

Dans une deuxième série d'essais réunis dans le tableau XVIII, la quantité de digitaline injectée par kilogramme et par minute est d'environ 0 milligr. 056.

La dose minimum moyenne mortelle de digitaline cristallisée provoquant la mort cardiaque du chien par perfusion lente est de 1 milligr. 69 par kilogramme d'animal.

TABEAU XVIII.

| POIDS DU CHIEN<br>en kilogrammes | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>1/10.000<br>perfusés<br>par minute | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>1/10.000<br>perfusés | DURÉE<br>de la<br>perfusion<br>en<br>minutes | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>1/10.000<br>perfusés<br>par<br>kilogramme<br>d'animal | QUANTITÉ<br>de digitaline<br>perfusée<br>par<br>kilogramme<br>en<br>milligrammes |
|----------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|
| 8,5                              | 4,62                                                                                | 125                                                                   | 27                                           | 14,7                                                                                                   | 1,47                                                                             |
| 7,5                              | 4,09                                                                                | 143                                                                   | 35                                           | 19,1                                                                                                   | 1,91                                                                             |
| 9,5                              | 5,10                                                                                | 169                                                                   | 33                                           | 17,8                                                                                                   | 1,78                                                                             |
| 9,7                              | 5,30                                                                                | 149                                                                   | 28                                           | 15,4                                                                                                   | 1,54                                                                             |
| 9,8                              | 5,32                                                                                | 165                                                                   | 31                                           | 17,7                                                                                                   | 1,77                                                                             |

1° Dose minimum mortelle moyenne par kilogramme d'animal  
= 1 milligr. 69.

2° Règle de LIND VAN WIJNGAARDEN.

Écart moyen :  $d = 0,15$ .

Écart moyen pour 100 :  $d \% = 8,86$ ;  $6,67 \sqrt{n-1} = 13,34$ .

Ainsi l'écart moyen pour 100 est  $< 6,67 \sqrt{n-1}$ .

3° Calcul de l'erreur maximum pour 100 (d'après TREVAN).

Écart individuel moyen :  $E = \sqrt{\frac{d^2}{n(n-1)}} = 0,0319$ .

Erreur maximum pour 100 =  $\frac{300 E}{1,69} = 5,6$ .

B. DIGITOXINE MERCK. — La toxicité de cette substance a été déterminée en faisant la moyenne d'une série de 5 expériences, dont les détails sont consignés dans le tableau XIX.

TABEAU XIX.

| POIDS DU CHIEN<br>en kilogrammes | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>de digitoxine<br>(1/10.000)<br>perfusés<br>par minute | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>de digitoxine<br>(1/10.000)<br>perfusés | DURÉE<br>de la<br>perfusion<br>en<br>minutes | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>de digitoxine<br>perfusés<br>par<br>kilogramme<br>d'animal | QUANTITÉ<br>de digitoxine<br>perfusée<br>par<br>kilogramme |
|----------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|
| 7,6                              | 4,25                                                                                                   | 132                                                                                      | 31                                           | 17,3                                                                                                        | 1,73                                                       |
| 5,8                              | 3,33                                                                                                   | 100                                                                                      | 30                                           | 17,2                                                                                                        | 1,72                                                       |
| 7                                | 4,21                                                                                                   | 139                                                                                      | 33                                           | 18,1                                                                                                        | 1,81                                                       |
| 6,90                             | 3,69                                                                                                   | 122                                                                                      | 33                                           | 17,8                                                                                                        | 1,78                                                       |
| 5,50                             | 3,09                                                                                                   | 96                                                                                       | 31                                           | 17,4                                                                                                        | 1,74                                                       |

Nous avons injecté aux animaux une solution de même titre que celle de la digitaline NATIVELLE à raison de 0 milligr. 056 par kilogramme et par minute; les conditions opératoires ont donc été absolument identiques à celles utilisées pour la détermination de la toxicité de la digitaline NATIVELLE. La mort est survenue après un temps variant entre trente et une et trente-trois minutes. D'après la moyenne des expériences, il ressort que la dose minimum mortelle moyenne de digitoxine est de 1 milligr. 75 par kilogramme d'animal.

1° *Dose minimum mortelle moyenne par kilogramme d'animal* = 1 milligr. 75.

2° *Règle de LIND VAN WIJNGAARDEN.*

Écart moyen :  $d = 0,03$ .

Écart moyen pour 100 : 1,71;  $6,67 \sqrt{n-1} = 13,34$ .

Ainsi l'écart moyen pour 100 est  $< 6,67 \sqrt{n-1}$ .

3° *Calcul de l'erreur maximum pour 100 (d'après TREVAN).*

Écart individuel moyen :  $E = \sqrt{\frac{d^2}{n(n-1)}} = 0,00638$ .

Erreur maximum =  $\frac{300 E}{1,75} = 1,09$ .

Il résulte de ces essais que la dose minimum mortelle (1 milligr. 69 par kilogramme d'animal) de digitaline NATIVELLE provoquant l'arrêt du cœur chez le chien par perfusion intraveineuse dans les conditions ci-dessus indiquées est sensiblement identique à celle de la digitoxine MERCK (1 milligr. 75 par kilogramme d'animal). Si l'on met en parallèle ces valeurs et celles trouvées, dans des conditions identiques, pour l'ouabaïne (0 milligr. 17 par kilogramme d'animal), on peut conclure que la digitaline est 10 fois moins toxique que l'ouabaïne et si l'on donne à l'ouabaïne la valeur 1, l'on pourra donner à la digitaline la valeur 0.1.

Ces chiffres doivent être comparés avec ceux fournis par RAYMOND-HAMET qui, opérant par une injection unique d'une solution concentrée (0 milligr. 20 par centimètre cube), conclut que la dose toxique pour la digitaline comme pour la digitoxine de CLOETTA est de 0 milligr. 5 par kilogramme d'animal. Cette méthode fournit pour la toxicité un chiffre 3 fois plus fort que la méthode d'HATCHER-MAGNUS. On pouvait se demander si le fait d'utiliser dans la technique de perfusion lente la respiration artificielle était la cause de résultats si différents et si la mort respiratoire, dans les expériences de RAYMOND-HAMET, ne précédait pas de beaucoup la mort cardiaque. Aussi avons-nous effectué quelques essais avec la digitaline NATIVELLE en utilisant des chiens non soumis à la respiration artificielle, toutes les autres conditions restant identiquement semblables à celles qui ont été décrites ci-dessus. Nous avons injecté dans la fémorale du chien par kilogramme et par minute 0 milligr. 056 de digitaline NATIVELLE (tableau XX). La dose minimum mortelle par kilogramme d'animal est en moyenne de 1 milligr. 731;

elle est si voisine de celle que nous avons obtenue sur les chiens soumis à la respiration artificielle (soit 1 milligr. 69) qu'on ne saurait admettre la seule influence de cette technique opératoire.

TABEAU XX.

| POIDS DU CHIEN<br>en kilogrammes | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>de digitaline<br>(1/10.000)<br>perfusés<br>par minute | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>de digitaline<br>(1/10.000)<br>perfusés | DURÉE<br>de la<br>perfusion<br>en<br>minutes | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>de digitaline<br>perfusés<br>par<br>kilogramme<br>d'animal | QUANTITÉ<br>de digitaline<br>perfusée<br>par<br>kilogramme |
|----------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|
| 6,5 ♂ . . . . .                  | 3,63                                                                                                   | 102                                                                                      | 29                                           | 15,6                                                                                                        | 1,56                                                       |
| 6 ♂ . . . . .                    | 3,4                                                                                                    | 115,6                                                                                    | 34                                           | 19,26                                                                                                       | 1,926                                                      |
| 6 ♂ . . . . .                    | 3,4                                                                                                    | 122,4                                                                                    | 36                                           | 20,4                                                                                                        | 2,040                                                      |
| 7,1 ♂ . . . . .                  | 3                                                                                                      | 100                                                                                      | 25                                           | 1,4                                                                                                         | 1,4                                                        |

1° Dose minimum mortelle moyenne par kilogramme d'animal  
= 1 milligr. 731.

2° Règle de LIND VAN WIJNGAARDEN.

Écart moyen :  $d = 0,251$ .

Écart moyen pour 100 :  $d\% = 14,3$ ;  $6,67\sqrt{n-1} = 11,5$ .

Ainsi l'écart moyen pour 100 est  $> 6,67\sqrt{n-1}$ .

3° Calcul de l'erreur maximum (d'après TREVAN).

Écart individuel moyen :  $E = \sqrt{\frac{d^2}{n(n-1)}} = 0,0655$ .

Erreur maximum =  $\frac{300 E}{1,731} = 10,15$ .

On pourrait trouver une explication plausible dans les travaux de FISCHER (1) qui a montré que le temps nécessaire à la fixation de la dose toxique de digitaline varie proportionnellement à la concentration de la solution utilisée. C'est pourquoi on doit penser que l'injection rapide d'une solution de forte concentration provoque la fixation immédiate et irréversible du poison sur le muscle cardiaque, la dose minimum léthale étant atteinte d'emblée ou même dépassée, tandis que la perfusion lente d'une solution de faible concentration ne permet de parvenir au même résultat qu'après un temps beaucoup plus long, le temps de latence se prolongeant beaucoup. Ainsi s'expliquerait la toxicité plus grande obtenue dans les expériences de RAYMOND-HAMET. Il est bon de remarquer, d'ailleurs, que ces deux méthodes, qui fournissent, à première vue, des indications différentes au point de vue absolu, conduisent aux mêmes conclusions lorsqu'il s'agit de comparer entre elles des substances semblables.

1. FISCHER. *Archiv. exp. Path. u. Pharm.*, 1928, 130, p. 111.

## II. — BIGITALIGÉNINE.

Cette génine, isolée par CLOETTA en 1920, est un produit cristallisé dans le système rhomboédrique, fusible à 232°, dextrogyre  $\alpha_D = +33,62$  très soluble dans l'alcool et le chloroforme. Sa formule chimique est encore très controversée  $C^{22}H^{40}O^3$  d'après CLOETTA (<sup>1</sup>),  $C^{23}H^{44}O^3$  selon WINDAUS (<sup>2</sup>) qui en fait une oxydigitoxigénine. De nombreux auteurs ont étudié son action pharmacodynamique sur la grenouille, et ont ainsi déterminé, d'une part la concentration minimum provoquant l'arrêt systolique par la méthode de la canule de STRAUB sur le cœur isolé [CLOETTA et GIACOMI (<sup>3</sup>)], d'autre part la dose minimum toxique sur le cœur *in situ* [CLOETTA (<sup>4</sup>)].

Nous nous sommes proposé de fixer la dose minimum mortelle par la méthode de perfusion lente chez le chien. La technique suivie est identique à celle qui a été décrite antérieurement. La faible solubilité de la bigitaligénine dans l'eau nous a causé quelques difficultés. Pour éviter la précipitation, nous n'avons effectué la dissolution qu'extemporanément. Dans des essais préliminaires, nous avons opéré avec une solution contenant 0 milligr. 4 par centimètre cube, nous l'avons injectée à raison de 0 milligr. 133 par kilogramme et par minute à 2 chiens qui sont morts en un temps variant de quarante-deux à quarante-cinq minutes.

Dans une autre série d'essais, nous avons opéré avec une solution contenant 1 milligr. 6 par centimètre cube obtenue par dilution aqueuse au 1/25 d'une solution préparée en dissolvant 200 milligr. de bigitaligénine dans 50 cm<sup>3</sup> d'alcool absolu. Nous avons injecté dans la fémorale du chien, par kilogramme et par minute, 0 milligr. 13 de bigitaligénine. Pour les 6 chiens expérimentés, la durée de la perfusion a varié entre dix-neuf et soixante-deux minutes, la moyenne des doses minima mortelles par kilogramme d'animal, exprimée en milligrammes, est de 7,1. Ces résultats sont énumérés dans le tableau XXI. Si l'on compare ces chiffres à ceux qui ont été obtenus avec la digitaline, on remarque donc que la toxicité de la bigitaligénine est de  $\frac{7,1}{1,7}$ , soit environ 4 fois plus faible que celle de la digitaline et 40 fois plus faible que celle de l'ouabaïne.

1. CLOETTA. *Archiv. exp. Path. u. Pharm.*, 1920, **88**, p. 113.

2. WINDAUS. *Archiv. exp. Path. u. Pharm.*, 1928, **135**, p. 252.

3. CLOETTA et GIACOMI. *Archiv. exp. Path. u. Pharm.*, 1926, **117**, p. 69.

4. CLOETTA. *Archiv. exp. Path. u. Pharm.*, 1926, **112**, p. 251.

TABLEAU XXI.

| POIDS DU CHIEN<br>en kilogrammes | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de solution<br>de digitaligénine<br>(1 milligr. 6<br>par cent. cube)<br>perfusés<br>par minute | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la solution<br>de digitaligénine<br>(1 milligr. 5<br>par cent. cube)<br>perfusés | DURÉE<br>de la<br>perfusion<br>en<br>minutes | QUANTITÉ<br>de digitaligénine<br>perfusée<br>par kilogramme<br>en milligrammes |
|----------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|
| 7,4 . . . . .                    | 0,61                                                                                                                       | 28,5                                                                                                            | 46                                           | 6,1                                                                            |
| 7,7 . . . . .                    | 0,67                                                                                                                       | 29,2                                                                                                            | 43                                           | 6                                                                              |
| 6,9 . . . . .                    | 0,86                                                                                                                       | 46,5                                                                                                            | 19                                           | 3,8                                                                            |
| 5,6 . . . . .                    | 0,59                                                                                                                       | 21,4                                                                                                            | 36                                           | 6,1                                                                            |
| 5,5 . . . . .                    | 0,69                                                                                                                       | 43,2                                                                                                            | 62                                           | 12,5                                                                           |
| 6,8 . . . . .                    | 0,71                                                                                                                       | 34,8                                                                                                            | 45                                           | 8,1                                                                            |

1° Dose minimum par kilogramme d'animal : 7 milligr. 1.

2° Règle de LIND VAN WIJNGAARDEN.

Écart moyen :  $d = 2,13$ .

Écart moyen pour 100 :  $d\% = 30$ ;  $6,67\sqrt{n-1} = 14,9$ .

Ainsi l'écart moyen pour 100 est  $> 6,67\sqrt{n-1}$ .

3° Calcul de l'erreur maximum (d'après TRÉVAN).

Écart individuel moyen :  $E = \sqrt{\frac{d^2}{n(n-1)}} = 0,389$ .

Erreur maximum pour 100 =  $\frac{300 E}{7,1} = 16,4$ .

Il est intéressant de rapprocher ces résultats de ceux obtenus par les autres auteurs qui ont effectué les déterminations de toxicité de la digitaligénine et de la digitaline. D'après CLOETTA, qui a opéré sur la grenouille, la concentration minimum provoquant l'arrêt systolique

TABLEAU XXII. — Action pharmacodynamique de la digitaline et de la digitaligénine sur le cœur de grenouille isolé ou « in situ » et sur le cœur du chien.

|                          | FORMULE<br>de FOCKE<br>$U = \frac{P}{t \times d}^{(1)}$ | CONCENTRATION MINIMUM<br>provoquant l'arrêt systolique<br>pour<br>un cœur isolé et perfusé<br>au moyen<br>de la canule de STRAUB |                        | DOSE MINIMUM<br>mortelle<br>par perfusion<br>lente<br>sur le chien<br>par kilogr.<br>d'animal<br>en milligr. |
|--------------------------|---------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                          |                                                         | CLOETTA <sup>(1)</sup>                                                                                                           | GIACOMI <sup>(2)</sup> | <sup>(3)</sup>                                                                                               |
| Digitaligénine . . . . . | 0,2                                                     | 1/20.000                                                                                                                         | 1/15.000 à 1/20.000    | 7,1                                                                                                          |
| Digitaline . . . . .     | 7,6                                                     | 1/200.000                                                                                                                        | 1/250.000 à 1/300.000  | 1,7                                                                                                          |
| Rapport des toxicités.   | 38                                                      | 10                                                                                                                               | 15 à 16                | 4                                                                                                            |

1. CLOETTA. *Loc. cit.*

2. GIACOMI. *Loc. cit.*

3. Expériences personnelles.

pour un cœur isolé et perfusé au moyen de la canule de STRAUB est de 1/20.000 pour la bigitaligénine et 1/200.000 pour la digitoxine. De plus, GIACOMI, qui a utilisé la même technique, obtient des chiffres légèrement différents, 1/15.000 à 1/20.000 pour la bigitaligénine et 1/250.000 à 1/300.000 pour la digitaline. Le rapport des toxicités est donc de 1/10 selon CLOETTA, 1/14 à 1/15 selon GIACOMI. D'autre part, les toxicités relatives de ces substances déterminées sur le cœur *in situ*, par CLOETTA, par la méthode de FOCKE, sont 0,2 pour la bigitaligénine et 7,6 pour la digitaline, ce qui établirait que la digitaline est 38 fois plus active que la bigitaligénine. Ces résultats sont groupés dans le tableau XXII.

---

## CHAPITRE IV

### SCILLARÈNES ET TEINTURES DE SCILLE

---

Il n'existe pas actuellement d'étalon international de scille préparé à partir de cette drogue. La pharmacopée des États-Unis utilise l'ouabaïne comme étalon des préparations de scille, ce qui est en contradiction avec l'opinion du professeur DALE (<sup>1</sup>). Aussi, après avoir déterminé, par la méthode de HATCHER-MAGNUS appliquée au chien, les toxicités des scillarènes A et B, nous nous sommes demandé s'il ne serait pas possible, tout au moins momentanément, d'utiliser l'une ou l'autre de ces substances comme étalon des préparations galéniques à base de scille et nous avons effectué, à titre d'exemple, le dosage de quelques teintures de scille en exprimant leur activité par rapport au scillarène A. Nous avons, de plus, déterminé la dose minimum mortelle du scillarène commercial (<sup>2</sup>) ou scillarène C, constitué par le mélange naturel des principes actifs du bulbe de la scille.

#### I. — SCILLARÈNES.

A. SCILLARÈNE A. — Le scillarène A est un glucoside cristallisé, de formule  $C^{36}H^{52}O^{13}$ . Il fut isolé par STOLL et ses collaborateurs (<sup>3</sup>) du complexe glucosidique extrait par STOLL et SUTER (<sup>4</sup>) en 1922 sous le nom de scillarène. Ce glucoside inodore, assez stable, de saveur très amère, est soluble dans 80 parties d'alcool méthylique. Il est moins soluble dans l'alcool éthylique, plus soluble dans un mélange d'eau et d'alcool, pratiquement insoluble dans l'éther et le chloroforme. Son pouvoir rota-

1. DALE. *Introduction of Methods of Biological Assay* by J. H. BURN. *Oxford University Press*, 1928.

2. Les différents scillarènes nous ont été fournis par la firme SANDOZ. Nous tenons à remercier M. ROTHLIN de l'obligeance avec laquelle il nous a fait parvenir les échantillons nécessaires aux mesures ci-dessous décrites.

3. STOLL. *Schweiz. med. Woch.*, 1926, p. 1169. — A. STOLL. E. SUTER et W. KREIS. *C. R. Soc. Helv. Scien. Nat.*, 1927, p. 132.

4. STOLL et SUTER. Brevet français 567.408 et Certif. d'ad. 29.105.

toire  $\alpha$ , (20-25°) = — 72 à 78. Par hydrolyse il fournit une aglycone, la scillaridine A. La toxicité du scillarène A a été déterminée par ROTHLIN (1) sur la grenouille et sur le chat. Elle est de 1.000 unités grenouille et de 0 milligr. 226 par kilogramme pour le chat. Nous avons déterminé la toxicité du scillarène A (2) sur le chien par la méthode de HATCHER-MAGNUS; nous avons utilisé une solution contenant 0 milligr. 04 de scillarène A par centimètre cube préparée en diluant dans 100 cm<sup>3</sup> d'eau distillée 6 cm<sup>3</sup> d'une solution mère obtenue elle-même par dissolution de 4 centigr. de scillarène dans une solution hydroalcoolique préparée à l'aide de 20 cm<sup>3</sup> d'alcool absolu étendu à 60 cm<sup>3</sup> avec de l'eau distillée. Nous avons, tout d'abord, effectué deux essais préliminaires en injectant 0 milligr. 02 par kilogramme et par minute. La mort de l'animal s'est produite en quatorze ou quinze minutes. Nous avons alors modifié la vitesse de l'écoulement et nous avons perfusé par la fémorale du chien 0 milligr. 014 par kilogramme et par minute. La durée de la perfusion a varié de vingt-trois à vingt-neuf minutes dans une série de six expériences qui sont énumérées dans le tableau XXIII.

TABLEAU XXIII.

| POIDS DU CHIEN<br>en kilogrammes | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>de scillarène<br>(0 milligr. 04<br>par cent. cube)<br>perfusés<br>par<br>minute | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>de scillarène<br>(0 milligr. 04<br>par cent. cube)<br>perfusés | DURÉE<br>de la<br>perfusion<br>en<br>minutes | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>de scillarène<br>perfusés<br>par<br>kilogramme<br>d'animal | QUANTITÉ<br>de<br>scillarène<br>perfusée<br>par<br>kilogramme<br>en<br>milligrammes |
|----------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| 8,8 ♀ . . . . .                  | 3,09                                                                                                                             | 77,25                                                                                                           | 25                                           | 8,77                                                                                                        | 0,310                                                                               |
| 6,8 ♂ . . . . .                  | 2,4                                                                                                                              | 69,6                                                                                                            | 29                                           | 10,2                                                                                                        | 0,408                                                                               |
| 9,3 ♂ . . . . .                  | 3,26                                                                                                                             | 76,61                                                                                                           | 23,5                                         | 9,2                                                                                                         | 0,362                                                                               |
| 7,8 ♀ . . . . .                  | 2,74                                                                                                                             | 67,13                                                                                                           | 24,5                                         | 8,6                                                                                                         | 0,344                                                                               |
| 8,5 ♀ . . . . .                  | 2,98                                                                                                                             | 68,64                                                                                                           | 23                                           | 8,06                                                                                                        | 0,322                                                                               |
| 6,5 ♂ . . . . .                  | 2,28                                                                                                                             | 52,44                                                                                                           | 23                                           | 8,07                                                                                                        | 0,322                                                                               |

1° Dose minimum mortelle par kilogramme d'animal, 0 milligr. 353.

2° Règle de LIND VAN WIJNGAARDEN.

Écart moyen :  $d = 0,024$ .

Écart moyen pour 100 :  $d \% = 6,71$  ;  $6,67 \sqrt{n-1} = 14,9$ .

Ainsi l'écart moyen pour 100 est  $< 6,67 \sqrt{n-1}$ .

3° Calcul de l'erreur maximum pour 100 (d'après TREVAN).

Écart individuel moyen :  $E = \sqrt{\frac{d^2}{n(n-1)}} = 0,8042$ .

1. ROTHLIN. *Schweitz. med. Wochen.*, 1927, 57, p. 1171.

2. Le scillarène A que nous avons utilisé a perdu, à 100°, 4,63 % de son poids.

$$\text{Erreur maximum pour } 100 = \frac{300 \text{ E}}{0,353} = 3,57.$$

B. SCILLARÈNE B. — Le scillarène B, constitué par un produit amorphe, n'est vraisemblablement pas un corps chimique nettement défini, mais est sans doute constitué par un mélange de deux glucosides (<sup>1</sup>).

Poudre blanche stable à l'air, inodore et de saveur amère, soluble dans l'eau, soluble dans l'alcool éthylique, peu soluble dans le chloroforme, insoluble dans l'éther, le scillarène fait dévier à droite la lumière polarisée. Il résiste mieux à l'hydrolyse que le scillarène A et son aglycone, la scillaridine B, est bien cristallisée.

Sa toxicité, déterminée par ROTHLEN sur le chat et la grenouille (<sup>2</sup>), est de 1.600 unités grenouille et de 0 milligr. 144 par kilogramme pour le chat. Nous avons déterminé sa dose minimum mortelle chez le chien. Nous avons utilisé une solution contenant 0 milligr. 05 par centimètre cube préparée en diluant dans l'eau distillée au 1/20 une solution mère contenant 1 milligramme par centimètre cube d'alcool absolu. Nous avons tout d'abord effectué deux essais préliminaires en injectant 0 milligr. 028 par kilogramme et par minute. La mort de l'animal s'est produite entre dix et quinze minutes. Nous avons alors modifié la vitesse de l'écoulement et nous avons perfusé la solution dans la veine fémorale à raison de 0 milligr. 012 par kilogramme et par minute. La durée de la perfusion a varié de vingt et une à vingt-neuf minutes et demie dans une série de six expériences, qui sont consignées dans le tableau XXIV.

TABEAU XXIV.

| POIDS DU CHIEN<br>en kilogrammes | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>de<br>scillarène B<br>(0 milligr. 05<br>par cent. cube)<br>par minute | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>de<br>scillarène B<br>(0 milligr. 05<br>par cent. cube)<br>perfusés | DURÉE<br>de la<br>perfusion<br>en<br>minutes | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>de<br>scillarène B<br>perfusés<br>par<br>kilogramme<br>d'animal | QUANTITÉ<br>de<br>scillarène B<br>perfusée<br>par<br>kilogramme<br>en<br>milligrammes |
|----------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| 10,4 ♀ . . . . .                 | 1,2                                                                                                                    | 35,4                                                                                                                 | 29,5                                         | 3,50                                                                                                             | 0,175                                                                                 |
| 8,4 ♀ . . . . .                  | 0,998                                                                                                                  | 21,45                                                                                                                | 21,5                                         | 2,55                                                                                                             | 0,127                                                                                 |
| 9,1 ♀ . . . . .                  | 1,12                                                                                                                   | 36,4                                                                                                                 | 32,5                                         | 3,83                                                                                                             | 0,191                                                                                 |
| 7,6 ♀ . . . . .                  | 1,10                                                                                                                   | 29,6                                                                                                                 | 28                                           | 3,8                                                                                                              | 0,191                                                                                 |
| 6,7 ♀ . . . . .                  | 0,80                                                                                                                   | 20                                                                                                                   | 25                                           | 2,98                                                                                                             | 0,149                                                                                 |
| 8,3 ♀ . . . . .                  | 0,986                                                                                                                  | 28,594                                                                                                               | 29                                           | 3,445                                                                                                            | 0,172                                                                                 |

1° Dose minimum mortelle moyenne par kilogramme d'animal : 0 milligr. 167.

1. Le scillarène B que nous avons utilisé a perdu, à 100°, 4,25 % de son poids.

2 Loc. cit.

2° Règle de LIND VAN WIJNGAARDEN.

Écart moyen :  $d = 0,0197$ .

Écart moyen pour 100 :  $d \% = 11,79$ ;  $6,67 \sqrt{n-1} = 14,9$ .

Ainsi l'écart moyen pour 100 est  $< 6,67 \sqrt{n-1}$ .

3° Calcul de l'erreur maximum pour 100 (d'après TREVAN).

Écart individuel moyen :  $E = \sqrt{\frac{d^2}{n(n-1)}} = 0,0036$ .

Erreur maximum pour 100  $= \frac{300 E}{0,167} = 6,4$ .

C. SCILLARÈNE C. — Le scillarène C, mélange naturel des glucosides purs, se présente sous la forme d'une poudre blanche, inodore, à saveur très amère, peu soluble dans l'eau, soluble dans l'alcool méthylique et éthylique, peu soluble dans le chloroforme, pratiquement insoluble dans l'éther. Il fait dévier à gauche le plan de la lumière polarisée.

Sa toxicité, déterminée par ROTHLIN (1), est de 1.200 unités grenouille et de 0 milligr. 181 par kilogramme pour le chat; nous avons déterminé par la méthode de perfusion lente la dose minimum mortelle chez le chien. Nous avons utilisé une solution contenant 0 milligr. 05 par centimètre cube. Cette solution est préparée en diluant au 1/20 dans l'eau distillée une solution mère obtenue en dissolvant 0 gr. 05 dans 50 cm<sup>3</sup> d'alcool absolu. Nous avons perfusé cette solution dans la veine fémorale du chien à raison de 0 milligr. 0116 par kilogramme et par minute. La durée de la perfusion a varié de vingt à trente minutes dans les essais que nous consignons dans le tableau XXV.

TABEAU XXV.

| POIDS DU CHIEN<br>en kilogrammes | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>de<br>scillarène C<br>(0 milligr. 05<br>par cent. cube)<br>perfusés<br>par minute | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>de<br>scillarène C<br>(0 milligr. 05<br>par cent. cube)<br>perfusés | DURÉE<br>de la<br>perfusion<br>en<br>minutes | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>de<br>scillarène C<br>perfusés<br>par<br>kilogramme<br>d'animal | QUANTITÉ<br>de<br>scillarène C<br>perfusée<br>par<br>kilogramme<br>en<br>milligrammes |
|----------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| 6 $\frac{0}{0}$ . . . . .        | 1,41                                                                                                                               | 35                                                                                                                   | 25                                           | 5.83                                                                                                             | 0,291                                                                                 |
| 5,5 $\frac{0}{0}$ . . . . .      | 1,29                                                                                                                               | 27,25                                                                                                                | 24,5                                         | 5.04                                                                                                             | 0,252                                                                                 |
| 7 $\frac{0}{0}$ . . . . .        | 1,65                                                                                                                               | 45,35                                                                                                                | 27,5                                         | 6,47                                                                                                             | 0,323                                                                                 |
| 7,4 $\frac{0}{0}$ . . . . .      | 1,75                                                                                                                               | 35                                                                                                                   | 20                                           | 4,72                                                                                                             | 0,236                                                                                 |
| 7 $\frac{0}{0}$ . . . . .        | 1,65                                                                                                                               | 49                                                                                                                   | 30                                           | 7.08                                                                                                             | 0,354                                                                                 |
| 7 $\frac{0}{0}$ . . . . .        | 1,65                                                                                                                               | 39                                                                                                                   | 24                                           | 5,57                                                                                                             | 0,278                                                                                 |
| 6,4 $\frac{0}{0}$ . . . . .      | 1,50                                                                                                                               | 36                                                                                                                   | 24                                           | 5.62                                                                                                             | 0,281                                                                                 |

1° Dose minimum mortelle moyenne par kilogramme d'animal, 0 milligr. 288.

1. Loc. cit.

2° Règle de LIND VAN WIINGAARDEN.

Écart moyen :  $d = 0,0294$ .

Écart moyen pour 100 :  $d \% = 10,21$  ;  $6,67 \sqrt{n-1} = 16,33$ .

Ainsi l'écart moyen pour 100 est  $< 6,67 \sqrt{n-1}$ .

3° Calcul de l'erreur maximum p. 100 (d'après TREVAN).

Écart individuel moyen :  $E = \sqrt{\frac{d^2}{n(n-1)}} = 0.0046$ .

Erreur maximum pour 100 =  $\frac{300 E}{0,288} = 4,83$ .

Nous avons résumé dans le tableau XXVI les divers résultats obtenus par ROTELIN et nous-même en déterminant les toxicités des scillarènes A B C sur divers animaux de laboratoire et par diverses méthodes.

TABLEAU XXVI.

|               | CONCENTRATION<br>minimum<br>mortelle<br>nécessaire<br>pour arrêter<br>le cœur isolé<br>de grenouille | TOXICITÉ<br>déterminée<br>par la<br>méthode<br>des<br>passages<br>successifs<br>(ROTELIN) | UNITÉS<br>grenouille<br>contenues<br>dans<br>1 milligr.<br>(ROTELIN) | DOSE<br>minimum<br>mortelle<br>(chat)<br>milligr.<br>par<br>kilogr.<br>(ROTELIN) | UNITÉS<br>chat<br>contenues<br>dans<br>1 milligr. | DOSE<br>minimum<br>mortelle<br>(chien)<br>milligr.<br>par<br>kilogr. | UNITÉS<br>chien<br>contenues<br>dans<br>1 milligr. |
|---------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| Scillarène A. | 1/ 900.000                                                                                           | 0,00009                                                                                   | 1.000                                                                | 0,226                                                                            | 4,42                                              | 0,353                                                                | 2,82                                               |
| Scillarène B. | 1/1.300.000                                                                                          | 0,000145                                                                                  | 1.600                                                                | 0,144                                                                            | 6,94                                              | 0,167                                                                | 5,9                                                |
| Scillarène C. | 1/1.100.000                                                                                          | "                                                                                         | 1.200                                                                | 0,171                                                                            | 5,5                                               | 0,288                                                                | 3,4                                                |

Si l'on compare ces résultats à ceux trouvés dans des conditions identiques par l'ouabaïne (0 milligr. 17 par kilogramme d'animal), on voit que le scillarène A est 20 fois moins toxique, le scillarène B a une toxicité analogue et la scillarène C est 17 fois moins toxique que l'ouabaïne et ainsi, si l'on donne à l'ouabaïne la valeur 1, on pourra donner au scillarène A la valeur 0,05, au scillarène B la valeur 1,02, et au scillarène C la valeur 0,059.

## II. — TEINTURES DE SCILLE.

Le dosage des teintures de scille peut être effectué sur divers animaux de laboratoire, grenouille, chat, chien.

La pharmacopée des États-Unis utilise la grenouille et détermine la dose minimum mortelle comparativement à l'étalon ouabaïne; c'est ainsi que la toxicité de la teinture de scille doit être telle que des doses comprises entre 0 cm<sup>3</sup> 0035 à 0 cm<sup>3</sup> 0055 doivent correspondre à des doses

d'ouabaïne variant de 0 milligr. 046 à 0 milligr. 054 par gramme de grenouille.

Nous avons déterminé la dose minimum mortelle de deux teintures de scille d'origine diverse par la méthode de perfusion lente chez le chien.

Nous avons utilisé une dilution au 1/20 dans l'eau distillée de la teinture au 1/5, soit une solution contenant 0 gr. 01 de scille par centimètre cube et nous avons injecté par kilogramme d'animal et par minute 0 cm<sup>3</sup> 14 de cette solution, ce qui correspond à 0 gr. 0014 de scille par minute et par kilogramme.

La première série d'essais a été effectuée sur une teinture de scille fournie par la Pharmacie Centrale des Hôpitaux. La dose minimum mortelle (moyenne de quatre expériences) est de 0 cm<sup>3</sup> 194 de teinture au 1/10, soit de 38 milligr. 9 de scille par kilogramme.

Si nous exprimons la dose toxique en prenant pour étalon le scillarène A, on peut dire que 1 cm<sup>3</sup> de teinture de scille au 1/5 a une activité égale à 1 milligr. 8 de scillarène A.

TABLEAU XXVII.

| POIDS DU CHIEN<br>en kilogrammes | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de<br>solution<br>de teinture<br>de scille<br>(0 gr. 1<br>parcent. cube)<br>perfusés<br>par minute | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de<br>solution<br>de teinture<br>de scille<br>(0 gr. 1<br>par cent. cube)<br>perfusés | DURÉE<br>de la<br>perfusion<br>en<br>minutes | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de<br>solution<br>de teinture<br>de scille<br>perfusés<br>par<br>kilogramme | QUANTITÉ<br>de scille<br>perfusée<br>par<br>kilogramme<br>d'animal<br>en<br>milligrammes |
|----------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|
| 8,5 ♀ . . . . .                  | 1,2                                                                                                                            | 34,2                                                                                                              | 28,5                                         | 4,123                                                                                                   | 41,25                                                                                    |
| 8,8 ♂ . . . . .                  | 1,32                                                                                                                           | 22,44                                                                                                             | 17                                           | 2,55                                                                                                    | 25,5                                                                                     |
| 6,6 ♂ . . . . .                  | 0,99                                                                                                                           | 27,6                                                                                                              | 28                                           | 4,16                                                                                                    | 41,5                                                                                     |
| 6,5 ♀ . . . . .                  | 1                                                                                                                              | 34                                                                                                                | 34                                           | 4,76                                                                                                    | 47,6                                                                                     |

1° Dose minimum mortelle moyenne par kilogramme : 38 milligr. 9.

2° Règle de LIND VAN WIJNGAARDEN.

Écart moyen :  $d = 6,76$ .

Écart moyen pour 100 :  $d\% = 47,37$ ;  $6,67\sqrt{n-1} = 41,59$ .

Ici l'écart moyen p. 100 est  $> 6,67\sqrt{n-1}$ .

3° Calcul de l'erreur maximum p. 100 (d'après TREVAN).

Écart individuel moyen :  $E = \sqrt{\frac{\sigma^2}{n(n-1)}} = 1,96$ .

Erreur maximum pour 100 =  $\frac{300E}{38,9} = 15$ .

La deuxième série d'essais a été effectuée dans les mêmes conditions

sur une teinture au 1/5 qui nous a été fournie par la Pharmacie centrale de France.

La dose minimum mortelle (moyenne de quatre expériences) est de 0 cm<sup>3</sup> 214 de teinture au 1/5, soit 42 milligr. 8 de scille par kilogramme, autrement dit 1 cm<sup>3</sup> de teinture de scille a une activité égale à 1 milligr. 64 de scillarène A.

TABEAU XXVIII.

| POIDS DU CHIEN<br>en kilogrammes | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de<br>solution<br>de teinture<br>de scille<br>(0 gr. 1<br>par cent. cube)<br>perfusés<br>par minute | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de<br>solution<br>de teinture<br>de scille<br>(0 gr. 1<br>par cent. cube)<br>perfusés | DURÉE<br>de la<br>perfusion<br>en<br>minutes | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de<br>solution<br>de teinture<br>de scille<br>perfusés<br>par<br>kilogramme<br>d'animal | QUANTITÉ<br>de scille<br>perfusée<br>par<br>kilogramme<br>d'animal<br>en<br>milligrammes |
|----------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|
| 8,8 ♂ . . . . .                  | 1,02                                                                                                                            | 28                                                                                                                | 27,5                                         | 4,118                                                                                                               | 41,18                                                                                    |
| 6,3 ♀ . . . . .                  | 1,24                                                                                                                            | 36,58                                                                                                             | 29,5                                         | 4,4                                                                                                                 | 44                                                                                       |
| 7 ♀ . . . . .                    | 1,05                                                                                                                            | 28,87                                                                                                             | 27,5                                         | 4,124                                                                                                               | 41,24                                                                                    |
| 8,9 ♀ . . . . .                  | 1,335                                                                                                                           | 40,65                                                                                                             | 30                                           | 4,0                                                                                                                 | 45                                                                                       |

1° Dose minimum mortelle moyenne par kilogramme : 42 milligr. 85.

2° Règle de LIND VAN WIJNGAARDEN.

Écart moyen :  $d = 1,64$ .

Écart moyen pour 100 :  $d\% = 3,83$ ;  $6,67\sqrt{n-1} = 41,59$ .

Écart moyen pour 100 est  $< 6,67\sqrt{n-1}$ .

3° Calcul de l'erreur maximum p. 100 (d'après TREVAN).

Écart individuel moyen :  $E = \sqrt{\frac{d^2}{n(n-1)}} = 0,48$ .

Erreur maximum p. 100 =  $\frac{300E}{42,85} = 3,4$ .

Si l'on prend la moyenne des valeurs de ces deux teintures, on peut calculer que la dose minimum mortelle moyenne de la teinture de scille, déterminée par perfusion lente d'une durée de trente minutes, sur le chien, exprimée en milligrammes de scille par kilogramme d'animal, est de  $\frac{38,5 + 42,85}{2} = 40,675$ .

En définissant le titre moyen de ces teintures par rapport à l'étalon scillarène, on peut dire que 1 cm<sup>3</sup> de teinture de scille au 1/5 possède, en moyenne, une activité égale à environ  $\frac{1,3 + 1,64}{2} = 1$  milligr. 72 de scillarène A.

## CHAPITRE V

### CYMARINE

---

Les étroites relations de constitution entre les glucosides que nous venons d'étudier et un nouveau corps, tout récemment entré dans la thérapeutique, la cymarine, nous ont incité à déterminer sa toxicité par la méthode de perfusion lente chez le chien.

Extrait en 1876, de l'*Apocynum Cannabinum*, par HUSEMAN, ce glucoside a été isolé sous sa forme cristalline pour la première fois, en 1909, par FINNEMORE (\*). En s'attachant à son étude, WINDAUS et ses collaborateurs (°), de 1915 à 1926, en établissent la constitution confirmée plus tard par les travaux de JACOBS (°) qui l'identifia à un des constituants de la strophanthine et lui attribua la formule  $C^{20}H^{44}O^8$ . Les progrès qu'on a fait dans la connaissance de son action pharmacodynamique ont été plus lents, et c'est seulement en 1913 qu'IMPENS (°) détermina son activité comparativement avec celle de la strophanthine, et en 1916 que STRAUB (°) put établir une relation entre son action tonocardiaque et sa fonction lactonique qui venait d'être mise en évidence par WINDAUS. UHLMANN, en 1927 (°), mettant au point sa méthode de détermination de toxicité par voie intraveineuse sur la grenouille, reprit l'étude de la cymarine et en compara la toxicité avec celle de l'ouabaïne.

Nous avons effectué la détermination de la toxicité en employant la méthode de perfusion lente chez le chien. La cymarine, que nous avons expérimentée, nous a été obligeamment fournie par la firme BAYER.

La cymarine est un produit cristallisé en prismes incolores, assez soluble dans l'eau, très soluble dans l'alcool dilué et le chloroforme.

1. FINNEMORE. *Proc. Chem. Soc., London*, 1909, **25**, p. 77.
2. WINDAUS et HERMANN. *J. P. C.*, 1913, **13**, p. 59; *Ber.*, 1915, **48**, p. 979. — WINDAUS, REVEREY et SCHWIEGER. *B. S. C.*, 1925, **38**, p. 1589; *Ber.*, 1925, **58**, p. 150.
3. JACOBS et HOFFMANN. *Journ. Biol. Chem.*, 1926, **67**, p. 606.
4. IMPENS. *Arch. d. ges. Physiol.*, 1913, **153**, p. 239.
5. STRAUB. *Bioch. Zeits.*, 1916, **75**, p. 132.
6. UHLMANN. *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.*, 1927, **122**, p. 219.

Comme sa teneur en eau est très variable, nous avons dû en faire préalablement la détermination dans les mêmes conditions que pour l'ouabaïne. L'échantillon utilisé a perdu 2,9 % de son poids. Nous avons utilisé, dans toutes nos expériences, une solution titrant 0 milligr. 01 par centimètre cube préparée par dilution au 1/100 de la solution mère contenant 1 milligr. par centimètre cube d'alcool absolu. Après deux essais préliminaires, nous avons adopté un rythme de perfusion de 0 milligr. 00609 par kilogramme et par minute. Nous avons opéré sur six chiens; la durée de la perfusion a varié entre trente et quarante et une minutes. La moyenne des doses minima mortelles trouvées a été de 0 milligr. 2007 (tableau XXIX).

Nous avons alors modifié le rythme de l'injection en perfusant, dans une série ultérieure d'expériences faite sur dix chiens, 0 milligr. 00666 par kilogramme et par minute. La durée de l'expérience a varié entre vingt-neuf minutes et demie et quarante-neuf minutes. D'après ces essais, la dose minimum mortelle de la cymarine expérimentée est, ainsi qu'il ressort du tableau XXX, de 0 milligr. 2302.

En prenant la moyenne de ces deux séries d'expériences, on peut calculer la dose minimum mortelle moyenne de la cymarine qui est  $\frac{0,2017 + 0,2302}{2} = 0,215$ . Si l'on rapproche cette toxicité de celle que

nous avons trouvée pour l'ouabaïne, nous voyons que la toxicité de la cymarine est les  $\frac{17}{23}$ , soit les  $\frac{7,9}{10}$  de celle de l'ouabaïne étalon. Ce chiffre est voisin de celui donné par UHLMANN qui trouve une toxicité de 0 milligr. 0055, déterminée par voie intraveineuse chez la grenouille, ce qui correspond à une activité égale aux  $\frac{9}{10}$  de celle de l'ouabaïne. Comme les résultats trouvés par UHLMANN se rapprochent de ceux fournis par nos expériences, nous pouvons conclure que la cymarine est sept à neuf fois moins toxique que l'ouabaïne.

TABLEAU XXIX.

| POIDS DU CHIEN<br>en kilogrammes | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>de cymarine<br>(0 milligr. 01<br>par cent. cube)<br>perfusés<br>par minute | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>de cymarine<br>(0 milligr. 01<br>par cent. cube)<br>perfusés | DURÉE<br>de la<br>perfusion<br>en<br>minutes | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>de cymarine<br>perfusés<br>par<br>kilogramme<br>d'animal | QUANTITÉ<br>de cymarine<br>perfusée<br>par<br>kilogramme<br>en<br>milligrammes |
|----------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|
| 6,5 Q . . . . .                  | 3,97                                                                                                                        | 129,5                                                                                                         | 32,5                                         | 19,92                                                                                                     | 0,1992                                                                         |
| 11 Q . . . . .                   | 6,72                                                                                                                        | 201                                                                                                           | 30                                           | 18,32                                                                                                     | 0,1882                                                                         |
| 10,7 Q . . . . .                 | 6,54                                                                                                                        | 218                                                                                                           | 33,5                                         | 20,30                                                                                                     | 0,203                                                                          |
| 10,5 Q . . . . .                 | 6,41                                                                                                                        | 262                                                                                                           | 41                                           | 24,80                                                                                                     | 0,248                                                                          |
| 6,1 Q . . . . .                  | 3,72                                                                                                                        | 111                                                                                                           | 30                                           | 18,30                                                                                                     | 0,183                                                                          |
| 6,8 Q . . . . .                  | 4,15                                                                                                                        | 127,5                                                                                                         | 30,5                                         | 12,75                                                                                                     | 0,1875                                                                         |

1° Dose minimum mortelle moyenne par kilogramme d'animal :  
0 milligr. 2007.

2° Règle de LIND VAN WIJNGAARDEN.

Écart moyen :  $d = 0,0165$ .

Écart moyen pour 100 :  $d\% = 8,26$ ;  $6,67\sqrt{n-1} = 14,9$ .

Ainsi l'écart moyen pour 100 est  $< 6,67\sqrt{n-1}$ .

3° Calcul de l'erreur maximum pour 100 (d'après TREVAN).

Écart individuel moyen :  $E = \sqrt{\frac{d^2}{n(n-1)}} = 0,003$ .

Erreur maximum pour 100 =  $\frac{300 E}{0,2007} = 4,5$ .

TABLEAU XXX.

| POIDS DU CHIEN<br>en kilogrammes | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>de cymarine<br>(0 milligr. 01<br>par cent. cube)<br>perfusés<br>par minute | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>de cymarine<br>(0 milligr. 01<br>par cent. cube)<br>perfusés | DURÉE<br>de la<br>perfusion<br>en<br>minutes | NOMBRE<br>de cent. cubes<br>de la<br>solution<br>de cymarine<br>perfusés<br>par<br>kilogramme<br>d'animal | QUANTITÉ<br>de cymarine<br>perfusée<br>par<br>kilogramme<br>en<br>milligrammes |
|----------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|
| 7,5 ♀ . . . . .                  | 5                                                                                                                           | 175                                                                                                           | 35                                           | 23,30                                                                                                     | 0,233                                                                          |
| 6,2 ♂ . . . . .                  | 4,13                                                                                                                        | 147,0                                                                                                         | 35,5                                         | 23,70                                                                                                     | 0,273                                                                          |
| 5,5 ♂ . . . . .                  | 4,33                                                                                                                        | 177,53                                                                                                        | 41                                           | 23,70                                                                                                     | 0,273                                                                          |
| 10,5 ♂ . . . . .                 | 7,26                                                                                                                        | 225                                                                                                           | 31                                           | 21,41                                                                                                     | 0,214                                                                          |
| 5,6 ♀ . . . . .                  | 3,73                                                                                                                        | 149,20                                                                                                        | 40                                           | 26,60                                                                                                     | 0,266                                                                          |
| 8,5 ♂ . . . . .                  | 5,66                                                                                                                        | 129,44                                                                                                        | 34                                           | 22,64                                                                                                     | 0,226                                                                          |
| 6,1 ♂ . . . . .                  | 4,07                                                                                                                        | 118,06                                                                                                        | 29,5                                         | 19,36                                                                                                     | 0,192                                                                          |
| 10,5 ♀ . . . . .                 | 7                                                                                                                           | 210                                                                                                           | 30                                           | 20                                                                                                        | 0,200                                                                          |
| 5,8 ♀ . . . . .                  | 3,9                                                                                                                         | 135                                                                                                           | 34,5                                         | 23,27                                                                                                     | 0,232                                                                          |
| 11,5 ♂ . . . . .                 | 7,66                                                                                                                        | 260                                                                                                           | 34                                           | 22,65                                                                                                     | 0,226                                                                          |

1° Dose minimum mortelle moyenne par kilogramme d'animal :  
0 milligr. 2302.

2° Règle de LIND VAN WIJNGAARDEN.

Écart moyen :  $d = 0,0298$ .

Écart moyen pour 100 :  $d\% = 12,9$ ;  $6,67\sqrt{n-1} = 20,01$ .

Ainsi l'écart moyen pour 100 est  $< 6,67\sqrt{n-1}$ .

3° Calcul de l'erreur maximum pour 100 (d'après TREVAN).

Écart individuel moyen :  $E = \sqrt{\frac{d^2}{n(n-1)}} = 0,00315$ .

Erreur maximum pour 100 =  $\frac{300 E}{0,2302} = 4,07$ .

## CONCLUSIONS

---

1° Nous avons déterminé par la méthode d'HATCHER-MAGNUS appliquée au chien les doses minima mortelles de quelques glucosides cardio-toniques : ouabaïne, digitaline, scillarènes, cymarine; les erreurs maxima, calculées par les méthodes statistiques, n'ont jamais dépassé 16,4 p. 100.

2° OUABAÏNE. — Les doses minima mortelles pour le chien déterminées par perfusion lente d'une durée de trente minutes sont, exprimées par kilogramme d'animal : 0 milligr. 1364 pour l'ouabaïne ARNAUD anhydre, 0,173 pour l'ouabaïne ARNAUD à 9 H<sup>2</sup>O, 0,1703 pour l'ouabaïne étalon à 19,94 % d'eau; 0,134 pour la G. strophanthine anhydre, 0,172 pour la G. strophanthine à 9 H<sup>2</sup>O; 0,170 pour la G. strophanthine à 20,07 % d'eau; enfin 0,140 pour l'ouabaïne U. S. P. X. anhydre, 0,178 pour l'ouabaïne U. S. P. X. à 9 H<sup>2</sup>O et 0,1585 pour l'ouabaïne U. S. P. X à 11,1 % d'eau.

L'identité de l'ouabaïne ARNAUD, de la G. Strophanthine allemande et de l'ouabaïne U. S. P. X. se trouve établie par la concordance de leur toxicité. Ces résultats ont permis d'établir un étalon international d'ouabaïne à partir de l'ouabaïne ARNAUD à 19,94 % d'H<sup>2</sup>O. Nous avons de plus pu préciser les conditions, d'une part, de la préparation de cet étalon et, d'autre part, de son dosage biologique.

3° DIGITALINE. — Les doses minima mortelles pour le chien par perfusion lente d'une durée de trente minutes sont, exprimées par kilogramme d'animal et en milligrammes, de 1,69 pour la digitaline NATIVELLE, 1,75 pour la digitoxine MERCK. L'identité de ces deux produits est donc établie par la concordance de leur toxicité.

4° DIGITALIGÉNINE. — La dose minimum mortelle déterminée par perfusion lente d'une durée de trente minutes sur le chien est, exprimée par kilogramme d'animal et en milligrammes, de 7,1.

5° SCILLARÈNES. — La dose minimum mortelle, déterminée par per-

fusion lente d'une durée de trente minutes sur le chien, est, exprimée par kilogramme d'animal et en milligrammes, de 0,353 pour le scillarène A, 0,167 pour le scillarène B, 0,288 pour le scillarène C.

6° CYMARINE. — La dose minimum mortelle déterminée, par perfusion lente d'une durée de trente minutes sur le chien, est, exprimée par kilogramme d'animal et en milligrammes, de 0,215.

7° En comparant ces différents résultats et en attribuant à la toxicité de l'ouabaïne la valeur 1, on peut exprimer, par rapport à cette unité, les doses minima mortelles des autres glucosides par les chiffres suivants : digitaline, 0,1; digitaligénine, 0,023; scillarène A, 0,48; scillarène B, 1,02; scillarène C, 0,059; enfin cymarine, 0,789.

Il nous a été possible, par la même méthode, de doser les principes actifs des teintures de strophanthus et de scille et d'en définir les titres moyens en prenant pour étalon l'ouabaïne pour la teinture de strophanthus et le scillarène A pour la teinture de scille.

1 cm<sup>3</sup> de teinture de strophanthus au 1/10 possède en moyenne une activité égale à 3 milligr. 05 d'ouabaïne étalon anhydre.

1 cm<sup>3</sup> de teinture de scille au 1/5 possède en moyenne une activité égale à 1 milligr. 72 de scillarène A.

Vu, bon d'imprimer :

*Le Président du Jury,*

A. GORIS.

Vu : *Le Doyen,*

RADAIS.

Vu et permis d'imprimer :

*Le Recteur de l'Académie de Paris,*

CHARLETY.



